



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis  
angulata L.*) TERHADAP KADAR TNF $\alpha$  SERUM TIKUS WISTAR  
BETINA MODEL HIPERTENSI  
TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Oleh :  
Lavina Sofia Ardani  
NIM : 17507010111006**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2020**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis  
angulata L.*) TERHADAP KADAR TNF- $\alpha$  SERUM TIKUS WISTAR  
BETINA MODEL HIPERTENSI  
TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Oleh :  
Lavina Sofia Ardani  
NIM : 17507010111006**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2020**



**HALAMAN PENGESAHAN**

**TUGAS AKHIR**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) TERHADAP KADAR TNF- $\alpha$  SERUM TIKUS WISTAR BETINA MODEL HIPERTENSI**

Oleh :

**Lavina Sofia Ardani**

**NIM: 175070101111006**

Telah diuji pada

Hari : Selasa

Tanggal : 3 November 2020

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

Dr. dr. Cesarius Singgih Wahono, Sp.PD, K-R

NIP. 196711011997031004

Pembimbing I/Penguji II,

Dr. dr. Setyawati Soeharto, M. Kes  
NIK 171152693

Pembimbing II/Penguji III,

dr. Dewi Mustika, M. Bimed  
NIP. 2016078711152001

Mengetahui,



Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

Dr. Irwanto Astuti, M.Kes., Sp.P(K)

NIP. 196310221996012001

**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lavina Sofia Ardani

NIM : 175070101111006

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikarna saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,

Yang membuat pernyataan,

(LAVINA SOFIA ARDANI)

NIM: 175070101111006



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan

Tugas Akhir dengan judul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  serum tikus Wistar betina model hipertensi".

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa semakin tinggi kadar sitokin inflamasi (TNF- $\alpha$ ) dalam serum maka semakin tinggi risiko terjadinya hipertensi. Disinilah peran Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis angulata L.*) sebagai solusi untuk menurunkan kadar TNF- $\alpha$  serum.

Dengan selesainya proposal Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. dr. Wisnu Barlianto, MSi.Med, Sp. A(K), Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
2. dr. Triwahju Astuti, M.Kes, Sp. P(K), Kepala Program Studi Pendidikan Dokter yang telah memberikan penulis kesempatan untuk menuntut ilmu di Program Studi Pendidikan Dokter
3. Dr. dr. Setyawati Soeharto, M. Kes sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bantuan ide saat pembuatan proposal, senantiasa memberikan semangat dan arahan, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. dr. Dewi Mustika, M. Biomed. Sebagai pembimbing kedua yang dengan sabar telah membimbing penulisan dan memberi semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

**ABSTRAK**

Ardani, Lavina Sofia. 2020. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ciplukan (Physalis angulata L.) Terhadap Kadar TNF- $\alpha$  Serum Tikus Wistar Betina Model*

*Hipertensi*. Tugas Akhir. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Setyawati Soeharto, M. Kes. (2) dr. Dewi Mustika, M. Biomed.

Perubahan pola makan dan gaya hidup yang tidak sehat di masyarakat menyebabkan meningkatnya prevalensi hipertensi. Hipertensi terjadi akibat peningkatan curah jantung dan atau resistensi perifer. Resistensi perifer utamanya diperankan sel endotel dan sel otot polos pembuluh darah. Endotel berfungsi untuk menghasilkan NO sebagai vasodilator otot polos. Zat toksik seperti ROS, kerusakan sel dapat memicu proses inflamasi yang menghasilkan TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  juga dapat memicu keluarnya ROS yang menyebabkan disfungsi endotel, akibatnya terjadi penurunan produksi NO dan otot polos pembuluh darah akan cenderung mengalami vasokonstriksi dan berujung pada hipertensi. Ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) mengandung fisalin yang bermanfaat sebagai anti-inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun ciplukan terhadap kadar TNF- $\alpha$  serum tikus wistar betina model hipertensi. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor, yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan, kontrol positif yaitu model hewan hipertensi (diinduksi L-NAME 75 mg/kgBB secara subkutan), Perlakuan 1 yaitu model hewan hipertensi disertai pemberian ekstrak daun ciplukan 500 mg/kgBB, Perlakuan 2 dengan dosis ekstrak 1500 mg/kgBB, dan Perlakuan 3 dengan dosis ekstrak 2500 mg/kgBB. Pengukuran kadar TNF- $\alpha$  serum dilakukan dengan metode ELISA. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun ciplukan dapat menyebabkan penurunan kadar, namun penurunan yang dihasilkan tersebut tidak signifikan secara statistik. Semakin tinggi dosis ekstrak ciplukan, semakin rendah kadar TNF- $\alpha$  serum, hubungan antara dosis ekstrak dengan kadar TNF- $\alpha$  serum pada korelasi sedang. Perlu dilakukan evaluasi dosis dan rute pemberian agar menghasilkan hasil yang signifikan.

**Kata kunci:** *Physalis angulata L.*, TNF- $\alpha$ , hipertensi

**ABSTRACT**

Ardani, Lavina Sofia. 2020. *Potency Test Effect of Ciplukan Leaf Extract (Physalis angulata L.) on TNF- $\alpha$  Serum Levels in Female Hypertensive Rats Models.*

Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Setyawati Soeharto, M. Kes. (2) dr. Dewi Mustika, M. Biomed.

Changes in eating patterns and unhealthy lifestyles in society have led to an increase in the prevalence of hypertension. Hypertension occurs due to increased cardiac output and / or peripheral resistance. Peripheral resistance is mainly played by endothelial cells and vascular smooth muscle cells. Endothelial functions to produce NO as a smooth muscle vasodilator. Toxic substances such as ROS, cell damage can trigger an inflammatory process that produces TNF- $\alpha$ . TNF- $\alpha$  can also trigger the release of ROS which causes endothelial dysfunction, as a result there is a decrease in NO production and the smooth muscle of blood vessels will tend to experience vasoconstriction and lead to hypertension. Ciplukan leaf extract (*Physalis angulata* L.) contains fisalin which is useful as an anti-inflammatory. This study aims to determine the effect of ciplukan leaf extract on serum TNF- $\alpha$  levels of female hypertensive models of Wistar rats. The number of samples used was 25 individuals, which were divided into 5 groups. The negative control group that was not treated, the positive control was a hypertensive animal model (L-NAME 75 mg / kgBW induced subcutan), Treatment 1 was an animal model of hypertension accompanied by 500 mg / kgBB of ciplukan leaf extract, treatment 2 with an extract dose of 1500 mg / kgBB, and treatment 3 with an extract dose of 2500 mg / kgBB. Measurement of serum TNF- $\alpha$  levels was carried out by the ELISA method. The results of this study indicate that administration of ciplukan leaf extract can cause a decrease in levels, but the resulting decrease is not statistically significant. The higher the ciplukan extract dose, the lower the TNF- $\alpha$  serum level, the relationship between extract dose and serum TNF- $\alpha$  level was in moderate correlation. It is necessary to evaluate the dose and route of administration in order to produce significant results.

*Keywords: Physalis angulata L., TNF- $\alpha$ , hypertension.*

**DAFTAR ISI**

JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5

**BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

## 2.1 Hipertensi



2.1.1 Definisi.....	6
2.1.2 Epidemiologi.....	6
2.1.3 Jenis-jenis hipertensi.....	7
2.2 Patofisiologi hipertensi	
2.2.1 Fisiologi Tekanan Darah.....	9
2.2.2 Disfungsi endotel pada hipertensi.....	10
2.2.3 TNF- $\alpha$ pada Hipertensi.....	12
2.3 L-NAME pada hipertensi.....	15
2.4 <i>Physalis angulata L</i> .....	15
2.4.1 Spesifikasi.....	15
2.4.2 Taksonomi <i>Physalis angulata L</i> .....	16
2.4.3 Kandungan <i>Physalis angulata L</i> .....	16
<b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konsep.....	19
3.1.1. Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian.....	19
3.2 Hipotesis Penelitian.....	20
<b>BAB 4. METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Rancangan Penelitian.....	22
4.2 Populasi dan Sampel	
4.2.1 Populasi Penelitian.....	24
4.2.2 Sampel Penelitian	
4.2.2.1 Kriteria Inklusi.....	24
4.2.2.2 Kriteria Eksklusi.....	24
4.2.2.3 Perhitungan Sampel.....	24
4.3 Variabel Penelitian	



4.3.1 Variabel Independen.....	25
4.3.2 Variabel Dependen.....	25
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	25
4.5 Definisi Operasional.....	26
4.6 Alat dan Bahan.....	
4.6.1 Alat dan Bahan Sanitasi dan Higienisasi.....	26
4.6.2 Alat dan Bahan Pemeliharaan dan Perawatan Hewan Coba.....	26
4.6.3 Alat dan Bahan Pemberian L-NAME.....	27
4.6.4 Alat dan Bahan Pemberian PBS.....	27
4.6.5 Alat dan Bahan pembuatan ekstrak daun <i>Physalis angulata</i> L.....	27
4.6.6 Alat dan Bahan pelarutan Ekstrak daun <i>Physalis angulata</i> L.....	27
4.6.7 Alat dan bahan pemberian ekstrak daun <i>Physalis angulata</i> L.....	28
4.6.8 Alat dan Bahan Pengukuran tekanan darah.....	28
4.6.9 Alat dan Bahan Pembedahan dan pengambilan darah.....	28
4.6.10 Alat dan Bahan untuk memisahkan serum darah.....	28
4.6.11 Alat dan Bahan pengukuran kadar TNF- $\alpha$ .....	28
4.7 Prosedur Penelitian.....	
4.7.1 Prosedur Pemeliharaan Tikus.....	28
4.7.2 Prosedur Persiapan hewan coba.....	29
4.7.3 Prosedur pembuatan ekstrak daun <i>Physalis angulata</i> L.....	29
4.7.4 Prosedur Penentuan dosis ekstrak daun <i>Physalis angulata</i> L.....	31
4.7.5 Prosedur Pemberian Ekstrak daun <i>Physalis angulata</i> .....	31
4.7.6 Prosedur Pembedahan dan pengambilan serum.....	31
4.7.7 Hasil Pengukuran tekanan darah.....	32



4.7.8	Prosedur Pengukuran kadar TNF- $\alpha$ dalam serum dengan ELISA..	32
4.7.9	Prosedur Pengolahan data.....	36
<b>BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA</b>		
5.1	Hasil penelitian.....	38
5.2	Hasil Analisis Data	
5.2.1	Hasil Uji Normalitas Data dan Homogenitas Varian.....	39
5.2.2	Hasil Uji <i>One-Way</i> ANOVA.....	40
5.2.3	Korelasi Dosis <i>Physalis angulata L.</i> dan kadar TNF- $\alpha$ serum.....	41
<b>BAB 6. PEMBAHASAN</b> .....		42
<b>BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN</b>		
7.1	Kesimpulan.....	48
7.2	Saran.....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....		49
<b>LAMPIRAN</b> .....		55



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 *Physalis angulata* L.....16

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian..... 19

Gambar 4.1 Rancangan Penelitian.....23

Gambar 4.2 Pengukuran tekanan darah..... 33

Gambar 4.3 Contoh Kurva Perhitungan Hasil.....36

Gambar 5.3 Perbandingan rata-rata Kadar TNF- $\alpha$  tiap kelompok perlakuan...39



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Kadar TNF- $\alpha$  pada berbagai kelompok tikus model HT.....38

Tabel 5.4 Signifikansi Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk.....40

Tabel 5.5 Signifikansi Hasil Uji homogenitas Levene Statistic.....40



**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1 Surat Keterangan Kelaiakan Etik..... 55

Lampiran 2 Hasil Pengukuran TNF- $\alpha$  menggunakan ELISA..... 57

Lampiran 3 Hasil Analisis menggunakan SPSS..... 58

Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian..... 59



## DAFTAR SINGKATAN

CRP : C-Reactive Protein

ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay

eNOS : endothelial Nitric Oxide Synthase

IFN : Interferon

IL-1 : Interleukin 1

L-NAME : NG-nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride

NO : Nitric Oxide

OD : Optical Density

TNF- $\alpha$  : Tumor Necrosing Factor- $\alpha$



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Seiring dengan perkembangan zaman dan kemajuan teknologi menyebabkan perubahan pola makan dan gaya hidup yang cenderung tidak sehat sehingga mengakibatkan meningkatnya prevalensi hipertensi. Hipertensi atau tekanan darah tinggi merupakan penyakit yang ditandai dengan naiknya tekanan darah sistolik hingga lebih dari 140 mmHg dan tekanan darah diastolik lebih dari 90 mmHg pada dua kali pengukuran dengan selang waktu lima menit dalam keadaan cukup istirahat (Kemenkes, 2014). Hipertensi merupakan penyakit yang paling banyak didiagnosis di Amerika Serikat (Rivera *et al*, 2019). Berdasarkan *survey* yang dilakukan oleh *National Center for Health Statistics* (NCHS) di Amerika Serikat pada tahun 2016 sampai 2017, sebanyak 1,3% dari penduduk di Amerika meninggal akibat hipertensi (Konchanek *et al.*, 2019). Di Indonesia sendiri, jumlah penderita hipertensi pun makin meningkat setiap tahunnya. Berdasarkan *survey* Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013, prevalensi penderita hipertensi di Indonesia sebesar 25,8% (Kemenkes, 2018). Hipertensi sering disebut juga sebagai “*silent killer*” di mana gejalanya dapat bervariasi pada masing-masing individu sehingga banyak orang yang tidak menyadari bahwa mereka terkena hipertensi (AHA, 2017). Pada hipertensi berat, apabila tidak segera ditangani maka akan berakibat pada kerusakan organ (penyakit ginjal kronis dan penyakit jantung iskemik) pada 50% persen pasien setelah 8-10 tahun munculnya gejala (Carey *et al.*, 2018).

Pada hipertensi peningkatan tekanan arteri rerata akibat peningkatan curah jantung dan atau resistensi perifer. Besarnya curah jantung ini dipengaruhi



oleh kecepatan jantung dalam memompa darah dan jumlah volume darah yang dikeluarkan setiap kali ventrikel berkontaksi memompa darah (Sherwood, 2014).

Sementara itu, resistensi perifer merupakan kemampuan pembuluh darah (terutama diperankan arteriol) dalam mempertahankan aliran darah (Delong and Sharma, 2019). Pembuluh darah memegang peranan penting dalam

patomekanisme terjadinya hipertensi. Pembuluh darah memiliki lapisan sel penyusun terdalam yang disebut endotel. Endotel menghasilkan parakrin vasoaktif berupa Nitric Oxide (NO) yang berperan sebagai vasodilator otot polos pembuluh darah dan endothelin sebagai vasokonstriktor (Sherwood, 2014). Adanya stimulus berbahaya yang diberikan terus menerus pada endotel menyebabkan terjadinya

disfungsi endotel. Disfungsi endotel berawal dari proses inflamasi yang memicu pengeluaran sel imun dan sitokin pro inflamasi (IL-1, TNF- $\alpha$ , dan IFN) yang dapat mengganggu produksi dari NO (Mintaroem et al, 2016). Akibatnya, otot polos pembuluh darah akan cenderung mengalami vasokonstriksi dan berujung pada hipertensi. Pada jangka panjang, hipertensi dapat menimbulkan komplikasi remodeling jantung dari mekanisme deposisi matriks dan hipertrofi miosit sehingga terjadi hipertrofi jantung kemudian berujung pada gagal jantung (Gonzalez *et al.*, 2018).

Pada penelitian yang dilakukan pada hewan coba, terdapat beberapa cara untuk menginduksi terjadinya hipertensi yaitu dengan L-NAME, diet tinggi NaCl, induksi deoxycorticosterone acetate (DOCA), dan Angiotensin II (Lin His Yu *et al.*, 2016). Pada penelitian ini, peneliti menggunakan tikus betina yang diinduksi oleh L-NAME. NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) merupakan senyawa yang dapat menyebabkan hipertensi dengan cara menghambat sekresi NO. L-NAME menghambat produksi L-arginin yang akan diubah menjadi NO oleh eNOS.



Penurunan NO pada plasma menyebabkan terjadinya vasokonstriksi, meningkatkan resistensi perifer sehingga berakibat pada meningkatnya tekanan darah (Berkban *et al.*, 2015).

Hipertensi merupakan penyakit yang tidak bisa disembuhkan, namun dapat dikontrol menggunakan modifikasi gaya hidup dan pengobatan secara farmakologis apabila diperlukan (AHA, 2017). Tatalaksana secara farmakologis ialah menggunakan *Angiotensin Converting Enzyme-Inhibitor* (ACEI) yang menghambat perubahan Angiotensin I menjadi Angiotensin II, dapat juga menggunakan penghambat reseptor angiotensin (ARB), pengeblok saluran kalsium (CCB) dan thiazide diuretic (James *et al.*, 2014). Namun, obat-obatan hipertensi yang ada sekarang cenderung mahal harganya, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian dari bahan alam karena Indonesia kaya akan tanaman obat sehingga harganya akan lebih terjangkau.

Indonesia merupakan negara tropis yang sangat kaya akan keanekaragaman hayati, dimana terdapat lebih dari 30.000 spesies tanaman dan 940 spesies diantaranya diketahui berkhasiat sebagai bahan obat (Mullaca, 2002).

Ciplukan (*Physalis angulata* L.) merupakan famili dari terung-terungan (*Solanaceae*) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di negara-negara tropis maupun subtropis. Sejak zaman dahulu kala, *Physalis angulata* banyak digunakan sebagai obat herbal anti-inflamasi. Menurut percobaan yang telah dilakukan secara *in vivo* maupun *in vitro*, menunjukkan bahwa *Physalis angulata* ini juga memiliki manfaat farmakologis sebagai anti-inflamasi (E Rengifo-salgado, 2013).

*Physalis angulata* memiliki kandungan fisalin, witanolida, karotenoid, dan flavonoid. Kandungan fisalin yang paling banyak terdapat pada daun *Physalis angulata* ini, diketahui memiliki manfaat sebagai anti-inflamasi (Pinto *et al.*, 2010).



Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Lestari (2016) mengenai ekstrak daun *Physalis minima* L. yang dilakukan pada tikus betina yang telah diovariectomi menunjukkan bahwa kandungan fisalin dan witanolida pada ciplukan dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  serum, sehingga terjadi penurunan tekanan darah (Lestari *et al.*, 2016). Berdasarkan penelitian Lestari (2016) tersebut, membuat peneliti ingin mengetahui manfaat ekstrak daun *Physalis angulata* L. yang berada dalam satu genus dengan *Physalis minima* sebagai terapi hipertensi melalui penurunan kadar TNF- $\alpha$  serum tikus Wistar betina yang diinduksi L-NAME.

## 1.2. Rumusan Masalah

1.2.1. Apakah pemberian ekstrak daun ciplukan dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada tikus betina strain Wistar model hipertensi yang diinduksi L-NAME?

1.2.2. Apakah dosis ekstrak daun ciplukan berkorelasi terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada tikus betina strain Wistar model hipertensi yang diinduksi L-NAME?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak daun *Physalis angulata* L. dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada tikus betina strain Wistar model hipertensi yang diinduksi L-NAME.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk membuktikan pengaruh perbedaan dosis ekstrak daun ciplukan berkorelasi terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada tikus betina strain Wistar model hipertensi yang diinduksi L-NAME.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademis



Dapat digunakan sebagai dasar teori untuk menambah ilmu pengetahuan dalam bidang kesehatan mengenai manfaat dari ekstrak daun ciplukan terhadap kadar TNF- $\alpha$  pada tikus betina strain Wistar model hipertensi yang diinduksi L-NAME.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

Dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian terapan tentang potensi pemanfaatan ekstrak daun ciplukan sebagai terapi antihipertensi.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Hipertensi

##### 2.1.1 Definisi

Hipertensi atau tekanan darah tinggi adalah peningkatan tekanan darah sistolik lebih dari 140 mmHg dan tekanan darah diastolik lebih dari 90 mmHg pada dua kali pengukuran dengan selang waktu lima menit dalam keadaan cukup istirahat/tenang (Kemenkes, 2014). Sementara menurut *American Heart Assosiation*, hipertensi dibagi menjadi dua kategori, yaitu hipertensi kelas 1 dan hipertensi kelas 2. Hipertensi kelas 1 adalah naiknya tekanan darah sistolik sebesar 130-139 mmHg atau tekanan darah diastolik sebesar 80-89 mmHg, dan hipertensi kelas 2 apabila tekanan darah sistolik sebesar  $\geq 140$  mm Hg atau tekanan darah diastolik sebesar  $\geq 90$  mmHg (Whelton et al., 2018)

##### 2.1.2 Epidemiologi

Prevalensi kejadian hipertensi antar negara di dunia cukup beragam, bergantung pada usia dan jenis kelamin. Berdasarkan data dari *Centers for Disease Control and Prevention's (CDC) National Center for Health Statistic (NCHS)* pada tahun 2015-2016 di Amerika, prevalensi hipertensi pada usia 18-39 tahun ialah 7,5%, usia 40-59 adalah 33,2%, dan pada usia 60 tahun keatas jumlahnya meningkat drastis menjadi 63,1% dari populasi. Prevalensi terjadinya hipertensi pada usia kurang dari 60 tahun lebih banyak pada laki-laki yakni sebanyak 37,2% dan wanita hanya 29,4%, sedangkan pada usia diatas 60 tahun keatas prevalensi terjadinya hipertensi pada wanita meningkat drastis yakni 66,8% sedangkan pada laki-laki berjumlah 58,5% (Fryar, 2017). Menurut data dari World



Health Organization (WHO) pada tahun 2015, tercatat bahwa angka prevalensi hipertensi di dunia adalah sebanyak 1,13 miliar individu, hal tersebut berarti 1 dari 3 orang di dunia terdiagnosis hipertensi dan angka tersebut diperkirakan akan meningkat terus menerus hingga mencapai 1,15 miliar individu pada tahun 2025.

Di Indonesia sendiri, jumlah penderita hipertensi pun makin meningkat setiap tahunnya. Berdasarkan *survey* Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013, prevalensi penderita hipertensi di Indonesia sebesar 25,8% di mana prevalensi tertinggi terdapat di provinsi Kalimantan Selatan yakni sebesar 44,1% dan prevalensi terendah terdapat di provinsi Papua yakni sebesar 22,2% (Kemenkes, 2018).

### 2.1.3. Jenis-jenis hipertensi

Hipertensi dibagi atas dua jenis yakni hipertensi primer dan hipertensi sekunder. Presentase hipertensi primer lebih tinggi daripada hipertensi sekunder yakni 90-95% dari keseluruhan kasus hipertensi, sedangkan presentase hipertensi sekunder ialah 2-10%.

Hipertensi primer, esensial, atau hipertensi idiopatik merupakan hipertensi yang dimana faktor pencetus hipertensi sekunder seperti gagal ginjal, feokromositoma, aldosteronisme atau penyebab lain dari hipertensi sekunder tidak ditemukan. Hipertensi primer ini merupakan kelainan heterogen, dimana setiap pasien memiliki faktor pencetus yang berbeda-beda. Meskipun penyebab pasti dari hipertensi primer belum diketahui secara pasti, namun sejauh ini salah satu faktor penyebab yang dapat diketahui ialah genetik, dimana terdapat gen yang overekspresi atau kurang mengekspresikan sebagaimana terdapat fenotip yang memperlambat terjadinya hipertensi. Beberapa faktor lain yang menyebabkan meningkatnya tekanan darah ialah obesitas, resistensi insulin, konsumsi alkohol



yang tinggi, konsumsi garam yang berlebihan, usia, gaya hidup tidak sehat (*sedentary lifestyle*), stress, konsumsi natrium dan kalsium yang rendah.

Hipertensi dapat muncul akibat adanya interaksi antara faktor genetik dengan lingkungan yang akan memicu aktivitas dari saraf simpatis, sistem renin-angiotensin-aldosteron dan sistem kallikrein-kinin pada ginjal, faktor endotel yang akan mempengaruhi penyebab lain seperti ekskresi natrium, reaktivitas vascular, dan kontraktilitas jantung. Beberapa fenotip tersebut akan menentukan resistensi vaskuar dan curah jantung yang akan berakibat pada tekanan darah (Carretero dan Oparil, 2000)

Hipertensi sekunder terjadi akibat masalah primer lain misalnya masalah pada ginjal. Ketika aliran darah menuju ginjal menurun, misalnya karena lesi aterosklerotik yang menonjol ke dalam lumen arteri renalis, ginjal akan merespon dengan menginisiasi jalur hormon renin-angiotensin-aldosteron yang berakibat pada peningkatan retensi garam dan air sewaktu pembentukan urin sehingga volume darah akan bertambah untuk mengompensasi berkurangnya aliran darah ke ginjal (Sherwood, 2014). Angiotensin II juga dapat meningkatkan tekanan darah dengan cara menyebabkan vasokonstriksi pada otot polos pembuluh darah dan stimulus saraf simpatis (Fyhruquist F et al, 1995). Akibatnya tekanan darah di arteri akan meningkat secara keseluruhan. Selain itu, hipertensi sekunder juga dapat terjadi pada feokromositoma yaitu tumor medulla adrenal yang menskresi epinefrin dan norepinefrin secara berlebihan, akibatnya terjadi peningkatan curah jantung dan vasokonstriksi perifer generalisata (Sherwood, 2014). Hipertensi sekunder juga dapat terjadi pada kelainan sistem endokrin seperti *cushing syndrome* dan *Conn's syndrome* (Freihage et al., 2008).



## 2.2. Patofisiologi hipertensi

### 2.2.1 Fisiologi tekanan darah

Tekanan darah atau tekanan arteri rerata merupakan gaya pendorong utama yang mengalirkan darah ke jaringan. Tekanan arteri rerata merupakan resultan antara curah jantung dan resistensi perifer.

$$\text{Tekanan arteri rerata} = \text{curah jantung} \times \text{resistensi perifer}$$

Curah jantung adalah jumlah volume darah yang dikeluarkan oleh ventrikel kiri jantung setiap menit. Besarnya curah jantung ini dipengaruhi oleh kecepatan jantung dalam memompa darah dan jumlah volume darah yang dikeluarkan setiap kali ventrikel berkontaksi memompa darah (Sherwood, 2014). Sementara itu, resistensi perifer merupakan kemampuan pembuluh darah (terutama diperankan arteriol) dalam mempertahankan aliran darah (DeLong and Sandeep, 2019).

Pembuluh darah merupakan salah satu organ yang sangat berperan penting dalam menjaga tekanan darah. Ada 4 macam pembuluh darah yaitu arteri, arteriol, kapiler, dan vena yang dibedakan berdasarkan fungsi dan strukturnya. Pembuluh darah yang memiliki peran utama dalam menjaga aliran darah adalah arteriol, hal itu karena arteriol berperan dalam mendistribusikan aliran darah yang dibawa oleh arteri yang berasal dari jantung menuju kapiler pada masing-masing organ. Arteriol memiliki dinding yang tersusun atas endotel, otot polos, dan selubung jaringan ikat yang tersusun atas kolagen, ujung saraf simpatis, dan fibroblas (Martinez-Lemus, 2012). Ketika lapisan otot polos yang melingkupi arteriol berkontraksi, maka lingkaran dan jari-jari pembuluh darah akan mengecil, sehingga hal tersebut meningkatkan resistensi dan mengurangi aliran darah yang akan didistribusikan menuju organ. Kapiler merupakan pembuluh darah yang



berperan langsung dalam menyalurkan aliran darah ke organ. (Marieb and Katja, 2013). Kapiler, hanya tersusun atas endotel, sehingga kapiler ini tidak memiliki kemampuan untuk vasokonstriksi maupun vasodilatasi. Sel endotel yang terdapat dalam lapisan paling dalam pembuluh darah memiliki peran aktif dalam aktifitas pembuluh darah, hal itu disebabkan karena endotel mampu menghasilkan parakrin vasoaktif yang akan mempengaruhi distensibilitas dinding pembuluh darah. Parakrin vasoaktif itu berupa *Nitric Oxide* (NO) yang akan menyebabkan relaksasi otot polos pembuluh darah, sehingga terjadi vasodilatasi, selain NO, endotel juga menghasilkan parakrin vasoaktif lain yaitu endotelin yang akan menyebabkan kontraksi dari otot polos pembuluh darah (Sherwood, 2014).

Endotel berperan dalam pemeliharaan dan modulasi tonus pembuluh darah dan homeostais dinding pembuluh darah dengan cara mensintesis, mengekspresikan dan melepaskan beberapa faktor. Secara fisiologis, endotel memiliki peran dalam menginhibisi, mengatur relaksasi tonus vaskular dan menurunkan tingkat stress oksidatif, mengatur permeabilitas vascular, pertumbuhan jaringan lunak, perlekatan platelet dan leukosit, dan thrombosis. Namun, apabila ada rangsang yang berbahaya diberikan terus menerus, endotel akan jatuh pada keadaan non-adaptif atau yang bisa disebut dengan disfungsi endotel (De Caterina and Libby, 2008).

### 2.2.2. Disfungsi endotel pada hipertensi

Disfungsi endotel adalah proses ketidaknormalan fungsi dari endotel akibat rangsang berbahaya yang diterima endotel terus menerus sehingga jatuh pada keadaan non-adaptif. Disfungsi endotel terjadi berawal dari proses inflamasi. Inflamasi sendiri adalah respon imun terhadap stimulus yang berbahaya seperti



patogen, kerusakan sel, ataupun zat toksik yang bertujuan untuk penyembuhan (Chen, *et al.* 2018). Pada inflamasi terjadi dua mekanisme, yaitu mekanisme vaskuler dan seluler. Pada mekanisme vaskuler terjadi vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskuler dan eksudasi cairan. Pada mekanisme seluler terjadi munculnya sitokin-sitokin inflamasi (IL-1, TNF- $\alpha$ , dan IFN) yang bertujuan untuk membantu proses penyembuhan (Mintaroem *et al.* 2016). Ketika ada stimulus berbahaya seperti kerusakan sel, patogen, maupun zat toksik makrofag akan datang pada lokasi tersebut, kemudian makrofag akan memberi respon dengan mengeluarkan sitokin pro-inflamasi yaitu IL-1 dan TNF- $\alpha$ . Sitokin ini akan menyebabkan neutrofil menempel pada endotel, aliran darah akan menghasilkan perputaran ("rolling") leukosit pada permukaan endotel (Abbas *et al.* 2016). Ketika leukosit menempel pada endotel, leukosit dapat teraktivasi dan melepaskan spesies oksigen toksik (reactive oxygen spesies atau ROS) dan enzim-enzim proteolitik yang dapat menyebabkan jejas endotel atau terlepasnya endotel. Reactive oxygen spesies atau ROS yang banyak dapat mengganggu produksi dan aktivitas dari NO yang dimana bertugas sebagai vasodilator pembuluh darah. ROS ini sendiri juga dapat meningkatkan regulasi dari sitokin-sitokin inflamasi (IL-1, TNF- $\alpha$ , dan IFN) (Mintaroem *et al.* 2016).

Kelainan pada curah jantung dan resistensi perifer dapat memicu terjadinya hipertensi. Pada resistensi perifer faktor yang menyebabkan hipertensi yaitu ketidaknormalan dari fungsi relaksasi otot polos pembuluh darah. Endotel memiliki peranan penting dalam proses terjadinya vasokonstriksi dan vasodilatasi otot polos pembuluh darah, sehingga endotel berperan penting patofisiologi terjadinya hipertensi. Endotel mengeluarkan *Nitric Oxide* (NO) yang berfungsi untuk relaksasi otot polos pembuluh darah. NO disintesis dari L-arginin, yang



merupakan asam amino non esensial. Asam amino L-arginin diubah menjadi NO oleh eNOS. Pembentukan NO dapat distimulasi oleh beberapa substansi endogen (bradikinin, serotonin), agen farmakologi (asetilkolin, substansi P) dan gaya mekanik (tegangan aliran darah) yang berpengaruh pada sel endotel. Sel endotel akan berkontraksi dan menghasilkan NO. Setelah disintesis, NO dilepaskan secara bebas otot polos pembuluh dan lumen yang akan menyebabkan relaksasi pada otot polos pembuluh darah sehingga terjadi vasodilatasi. Apabila terjadi disfungsi endotel maka akan menyebabkan penurunan produksi NO yang bertugas sebagai vasodilator, hal tersebut mengakibatkan otot polos yang melingkupi pembuluh darah akan cenderung berkontraksi sehingga menyebabkan terjadinya hipertensi (Caterina and Peter, 2007).

### 2.2.3. TNF- $\alpha$ pada disfungsi endotel

Tumor Necrosing Factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) merupakan sitokin pro-inflamasi yang menyebabkan terjadinya inflamasi dalam tubuh. TNF- $\alpha$  sendiri merupakan protein yang disintesis dalam bentuk transmembran protein tipe II dengan massa atom 26kDa dan kemudian berubah bentuknya menjadi molekul yang lebih stabil yaitu mTNF- $\alpha$  atau diubah menjadi sTNF- $\alpha$  dengan bantuan TNF- $\alpha$  converting enzyme (TACE) (Dong Yun et al., 2015). TNF- $\alpha$  memiliki dua jenis reseptor yaitu TNFR tipe 1 dan TNFR tipe 2. TNFR 1 terdapat di semua jenis sel dan jaringan tubuh, sedangkan TNFR 2 terdapat di sel imun dan sel endotel dalam jumlah yang sedikit. TNFR1 dapat berikatan dengan mTNF- $\alpha$  maupun sTNF- $\alpha$  yang akan memicu apoptosis dari sel atau jaringan yang bersangkutan. TNFR 2 lebih cenderung untuk berikatan dengan mTNF- $\alpha$  yang memiliki sifat sebagai anti apoptosis (Cabal-Hierro L and Lazo PS, 2012).



Pada kondisi inflamasi, terjadi pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 dan TNF- $\alpha$ . Sitokin ini akan menyebabkan neutrofil menempel pada endotel, aliran darah akan menghasilkan perputaran ("rolling") leukosit pada permukaan endotel (Abbas *et al.*,2016). Ketika leukosit menempel pada endotel, leukosit dapat teraktivasi dan melepaskan spesies oksigen toksik (reactive oxygen spesies atau ROS) dan enzim-enzim proteolitik yang dapat menyebabkan jejas endotel atau terlepasnya endotel, akibatnya endotel tidak dapat berfungsi dengan baik (Mintaroem *et al.*,2016). Kerusakan endotel tersebut terkait dengan fungsinya sebagai penghasil NO, apabila endotel mengalami disfungsi, maka produksi NO akan menurun, sehingga otot polos pembuluh darah akan mengalami vasokonstriksi dan berujung pada hipertensi. Pada pasien dengan resistant hypertension menunjukkan kekakuan arteri yang lebih tinggi dan gangguan fungsi endotel dibandingkan dengan orang normotensi (Figuredo VN *et al.*,2012). Konduktansi pembuluh darah secara bertahap menunjukkan distensibilitas dan kapasitas pembuluh darah yang berkurang, atau disebut juga kekakuan pembuluh darah. Kekakuan arteri ini merupakan prediktor independen dari semua penyebab kerusakan organ pada hipertensi yang ditandai dengan perubahan struktural pada protein di jaringan ikat pada dinding pembuluh darah (Laurent S *et al.*,2001).

ROS meningkatkan sekresi kolagen pada pembuluh darah sehingga menyebabkan kekakuan pembuluh darah (Patel R *et al.*,2006). Kekakuan pembuluh darah ini juga disebabkan oleh peningkatan Angiotensin II yang dapat memicu pertumbuhan, migrasi sel dan peningkatan sintesis kolagen tipe I dan III pada dinding fibroblas pembuluh darah (F Fyhrquist, 1995). Kekakuan pembuluh darah dan peningkatan Angiotensin II ini memicu aktivitas NADPH oksidase,



peningkatan ROS dan penurunan NO yang berakibat pada terjadinya disfungsi endotel. Angiotensin II dan ROS mengaktifkan sinyal produksi sitokin, seperti TNF- $\alpha$ . Inflamasi vaskular menstimulasi fibrosis vaskular dan proliferasi sel otot polos, yang dapat meningkatkan kekakuan arteri (S Park and Lakatta EG, 2012).

Pada endotel normal terjadi homeostasis melalui pelepasan beberapa molekul seperti NO yang terus menerus diproduksi oleh sel endotel. L-arginin akan diubah menjadi NO oleh eNOS. L-arginin merupakan substrat untuk arginase yang merupakan enzim yang diekspresikan dalam endotel. TNF- $\alpha$  meng-upregulasi ekspresi arginase pada sel endotel, yang berakibat pada penurunan ketersediaan L-arginase untuk eNOS dan meningkatkan produksi O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Produksi ROS akan mengurangi kemampuan vasodilatasi yang dimediasi oleh NO (Gao X *et al*, 2007).

TNF- $\alpha$  merupakan marker potensial pada inflamasi vaskuler, namun peran sitokin yang satu ini dalam patogenesis hipertensi belum diketahui dan sedang pada tahap penelitian lebih lanjut. Peran TNF- $\alpha$  diketahui berhubungan dengan hipertensi, namun belum ada studi yang mempelajari mengenai efek TNF- $\alpha$  pada sel endotel manusia. Penelitian yang dilakukan oleh Barbaro (2015) mengenai efek pemberian anti-TNF- $\alpha$  (infliximab) terhadap serum penderita hipertensi menunjukkan terjadinya penurunan tekanan darah dengan cara mengukur kadar ROS dan apoptosis sel endotel. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian anti-TNF- $\alpha$  (infliximab) dapat menurunkan tekanan darah melalui penurunan apoptosis sel endotel, namun tidak terjadi perubahan pada ROS. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa pemberian infliximab dapat menyebabkan peningkatan ekspresi eNOS. Sehingga dapat disimpulkan bahwa TNF- $\alpha$  menghambat sintesis NO pada sel endotel yaitu dengan cara menghambat produksi eNOS (Barbaro *et al*, 2015). Pada penelitian lain mengenai TNF- $\alpha$



inhibitor yang dilakukan oleh Murdaca (2013), menyatakan bahwa pemberian TNF- $\alpha$  inhibitor dapat menyebabkan penurunan marker inflamasi seperti TNF- $\alpha$  itu sendiri, CRP, IL-6 dan meningkatkan kemampuan endotel dalam mensintesis NO (Murdaca G et al. 2013).

### 2.3. L-NAME pada hipertensi

NG-nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (L-NAME) merupakan suatu senyawa yang beranalog dengan L-arginin. Senyawa ini dapat menghambat aktivitas NOS dan menghambat biosintesis NO yang berujung pada terjadinya hipertensi. Pada penelitian seekor tikus yang di injeksi L-NAME, terjadi kerusakan pada sel endotel pembuluh darahnya, sehingga metode ini banyak digunakan untuk meneliti hipertensi, penyakit kardiovaskular, dan ginjal. L-NAME menyebabkan kontraksi otot polos pada arteri tikus yang telah diisolasi dan menghambat relaksasinya (Sung J.H. et al., 2013).

### 2.4. *Physalis angulata* L.

#### 2.4.1. Spesifikasi

*Physalis angulata* L. atau sering disebut ciplukan, merupakan salah satu tanaman dari famili Solanaceae yang berasal dari Amerika, namun sekarang sudah tersebar hampir di seluruh negara tropis maupun subtropis. Tanaman ini memiliki tinggi hingga mencapai 1 m, batangnya berwarna hijau kecoklatan, bunga berwarna kuning. Daun ciplukan berbentuk bulat oval atau bulat memanjang dan memiliki ujung yang runcing. Daunnya memiliki panjang 4-10 cm dan lebarnya 3-6 cm. Tangkai daunnya memiliki panjang 4 cm atau lebih. Tepi daunnya bergerigi, namun ada juga yang halus. Bunga ciplukan memiliki panjang 5-40mm, dengan mahkota bunga yang berwarna kuning dengan atau tanpa bintik-bintik kecoklatan yang memiliki panjang 4-12 mm dan lebar 6-12 mm, kepala sari



berwarna kebiruan atau ungu. Memiliki buah yang berbentuk bulat seperti tomat, berwarna kuning hingga kemerahan yang dilindungi oleh kelopak yang membungkus buah. (Ayodhyareddy and P. Rupa, 2016).

#### 2.4.2. Taksonomi *Physalis angulata* L.

Berikut adalah klasifikasi *Physalis angulata* L. menurut *Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI)* (2019):

Domain : Eukaryota

Kingdom : Plantae

Phylum : Spermatophyta

Subphylum: Angiospermae

Class : Dicotyledonae

Order : Solanales

Family : Solanaceae

Genus : *Physalis*

Species : *Physalis angulata* L.



Gambar 2.1 *Physalis angulata* L.

#### 2.4.3. Kandungan *Physalis angulata* L.

*Physalis angulata* L. mengandung berbagai macam zat yang dapat digunakan sebagai bahan obat seperti fisalin, witanolida, karotenoid, myceritin 3-O-neohesperidosida, asam oleanolat, dan figrin yang terdapat dalam struktur akar, batang, buah, dan daun. Kandungan zat aktif yang ada pada ciplukan seperti fisalin dibagi menjadi beberapa jenis, yaitu fisalin F, B, D, G, E, H, I, U, dan W, sementara witanolida dibagi menjadi Witanolida A, B, I fisagulin A, B, C, D, H, I. Pada masing-masing jenis dari zat aktif tersebut memiliki peran yang berbeda-beda, seperti anti-bakterial, anti-inflamasi, anti-malaria, anti-oksidan dan sebagai zat sitotoksik terhadap sel tumor. Tingkat kemampuan dari masing-masing zat aktif



dalam menjalankan perannya juga berbeda-beda, yaitu mulai dari yang tidak memiliki pengaruh apa apa (yaitu Fisagulin D) hingga yang memiliki pengaruh kuat (yaitu withangulatin B) (Rengivo-Salgado dan Vargas-Arana, 2013). Antioksidan eksogen seperti ekstrak daun *Physalis angulata* L. ini memiliki sifat seperti dua mata pisau, apabila diberikan dalam dosis rendah akan bermanfaat sebagai antioksidan, namun apabila diberikan pada dosis tinggi, dapat berperan sebagai prooksidan. Daun *Physalis angulata* juga mengandung sianida yang dapat memicu stress oksidatif dan menyebabkan apoptosis sel (Febianti, Z. et al., 2019). Kandungan inilah yang bisa menyebabkan peran dari fisalin sebagai zat anti-inflamasi menjadi terhambat apabila ekstrak diberikan pada dosis tinggi.

Diantara kandungan dari *Physalis angulata* L. yang bermanfaat sebagai anti-inflamasi ialah fisalin. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pinto (2010) mengenai efek fisalin E terhadap inflamasi akut dan kronis yang terjadi pada dermatitis menyatakan bahwa, fisalin E dapat menurunkan inflamasi dengan cara menghambat aktivitas sitokin pro-inflamasi ( $\text{TNF-}\alpha$  dan  $\text{IFN-}\gamma$ ) dan myeloperoksidase (MPO) (Pinto, 2010).

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Yang YJ (2017) menyatakan bahwa kandungan fisalin E yang terdapat pada daun *Physalis angulata* L. secara spesifik mampu menghambat produksi serta aktifitas dari  $\text{TNF-}\alpha$  dan  $\text{IFN-}\gamma$  dengan cara menghambat pada jalur signaling NF- $\kappa$ B (Yang YJ et al., 2017). NF- $\kappa$ B merupakan aktivator transkripsional yang bersifat *immediate* yang berperan penting dalam respon inflamasi yaitu dengan menginduksi transkripsi dari sitokin pro-inflamasi yaitu  $\text{TNF-}\alpha$  (Erkel G, 2000). NF- $\kappa$ B memiliki regulator utama yang disebut dengan  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$  (Solt LA dan Michael JM, 2008). Apabila  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$  didegradasi dari sitoplasma, maka NF- $\kappa$ B akan mengalami aktivasi dan translokasi di nucleus

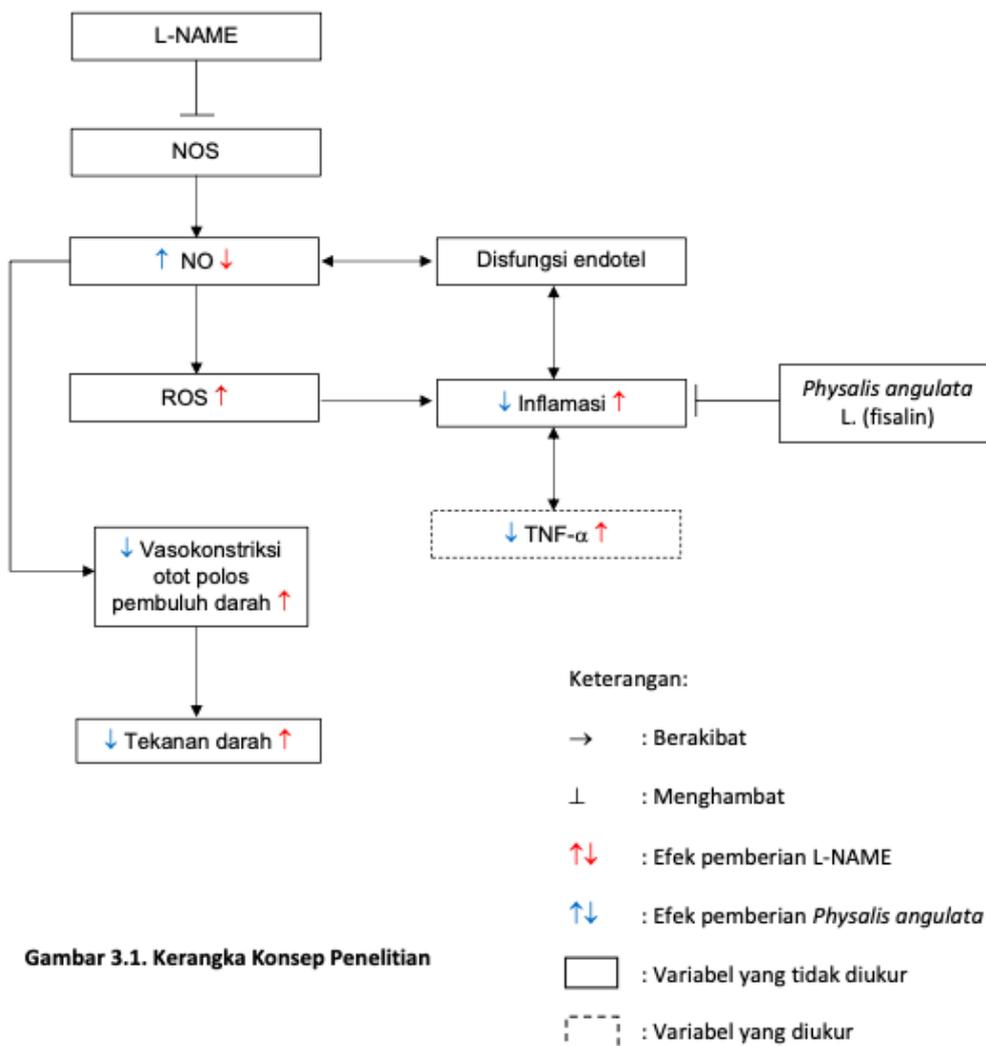


sehingga terjadi aktivasi dari sitokin pro-inflamasi, yaitu TNF- $\alpha$ . Ketika zat aktif yang terkandung dalam ciplukan yaitu fisalin berikatan dengan reseptor glucocorticoids yang ada di sitoplasma, terjadi pengingkatan dari I $\kappa$ B $\alpha$  di sitoplasma, sehingga aktivasi dan translokasi dari NF- $\kappa$ B di nukleus akan dihambat, akibatnya akan terjadi penurunan dari aktivasi TNF- $\alpha$  (Yang YJ et al., 2017). Hal ini berarti kandungan fisalin yang terdapat pada ekstrak daun *Physalis angulata* L. dapat menurunkan penyakit yang disebabkan oleh inflamasi, salah satunya hipertensi melalui penghambatan sitokin pro-inflamasi yaitu TNF- $\alpha$ . Pernyataan ini didukung oleh penelitian Barbaro (2015) tentang efek penggunaan anti-TNF- $\alpha$  (infliximab) terhadap serum penderita hipertensi, hasilnya ialah infliximab dapat menurunkan jumlah TNF- $\alpha$  pada serum penderita hipertensi, yang berakibat pada penurunan tekanan darah (Barbaro, 2015). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Lestari (2016) mengenai ekstrak daun *Physalis minima* L. yang dilakukan pada tikus betina hipertensi yang telah diovariektomi menunjukkan bahwa kandungan fisalin dan witanolida pada ciplukan dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  serum, sehingga terjadi penurunan tekanan darah (Lestari et al., 2016). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa fisalin memiliki mekanisme yang mirip dengan anti-TNF- $\alpha$  (infliximab) sebagai anti-inflamasi, oleh karenanya peneliti berharap ekstrak daun *Physalis angulata* L. dapat digunakan sebagai alternatif penemuan baru dalam terapi hipertensi.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1. Kerangka Konsep Penelitian

3.1.1 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

NG-nitro-L-arginine methyl ester hydrochloride (L-NAME) merupakan suatu senyawa yang beranalog dengan L-arginin. Senyawa ini akan menurunkan produksi eNOS yang berakhir pada penurunan produksi dari Nitric Oxide (NO)



(Hoon Sung *et al.*, 2013). Penurunan produksi NO, menyebabkan peningkatan *Reactive oxygen Species* (ROS), hal ini akan menyebabkan terjadinya inflamasi yang ditandai dengan keluarnya sitokin pro-inflamasi salah satunya yaitu TNF- $\alpha$  (Mintaroem, 2016). Apabila rangsang berbahaya tersebut terjadi secara terus menerus, maka endotel akan jatuh pada keadaan non-adaptif yang disebut dengan disfungsi endotel. Endotel dalam pembuluh darah berperan untuk menghasilkan parakrin vasoaktif seperti NO yang berperan sebagai vasodilator (Sherwood, 2014). Apabila terjadi disfungsi endotel, maka terjadi penurunan produksi NO, sehingga otot polos pembuluh darah akan mengalami vasokonstriksi. Kondisi tersebut akan berujung pada terjadinya hipertensi (Caterina and Peter, 2007).

Ekstrak daun *Physalis angulata L.* mengandung zat fisalin yang berperan sebagai anti-inflamasi. Fisalin dapat menurunkan produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ . Jika inflamasi dihambat, maka produksi TNF- $\alpha$  menurun, sehingga endotel dapat berfungsi lagi dengan baik dan mampu menghasilkan NO secara optimal yang berfungsi sebagai vasodilator otot polos pembuluh darah, sehingga pemberian ekstrak daun *Physalis angulata L.* tersebut, diharapkan akan menurunkan inflamasi yang berujung pada penyembuhan hipertensi (YJ Yang *et al.*, 2017).

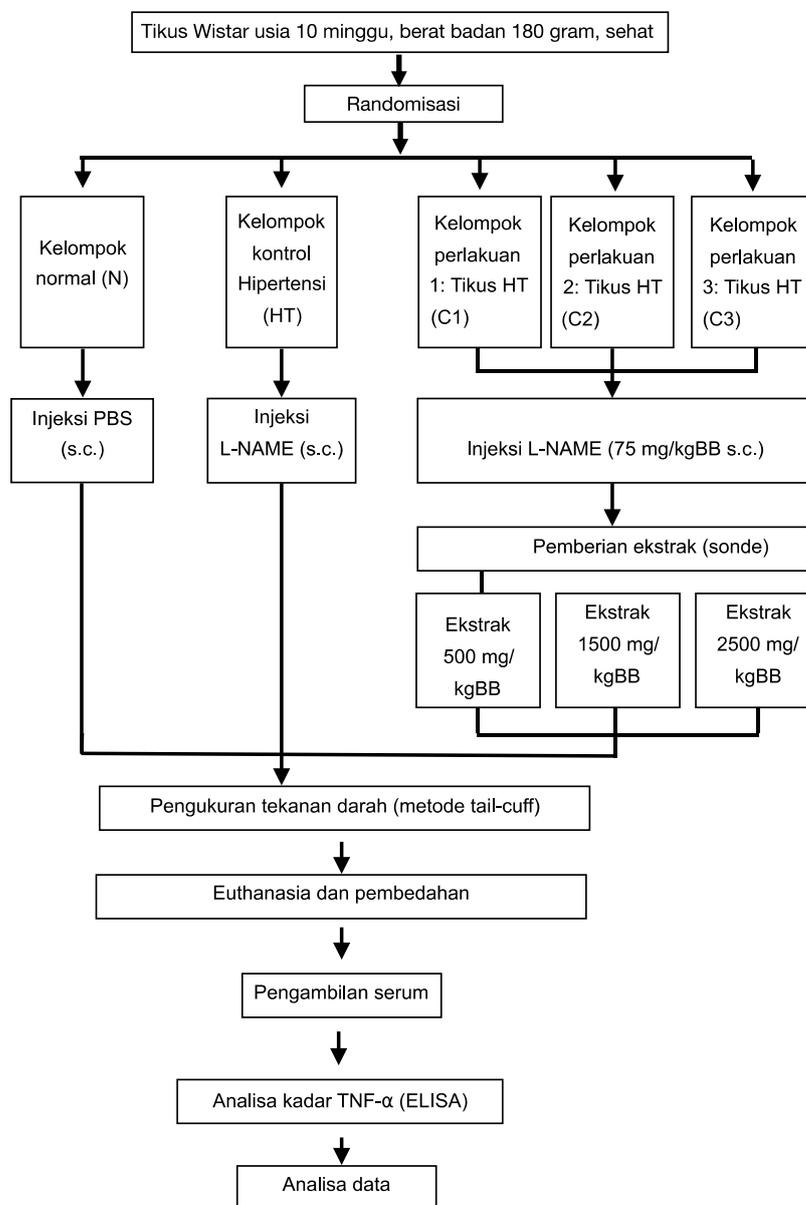
### 3.2 Hipotesis Penelitian

1. Pemberian ekstrak daun ciplukan dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada tikus betina strain Wistar model hipertensi yang diinduksi L-NAME



**BAB 4****METODE PENELITIAN****4.1 Rancangan penelitian**

Penelitian ini merupakan eksperimen murni (*true experimental design*) secara *invivo* dengan menggunakan hewan coba tikus model hipertensi yang terdiri dari 5 kelompok. Setelah dilakukan perlakuan, pembedahan dilakukan untuk mengambil darah tikus, kemudian darah dicentrifuge selanjutnya diambil serumnya untuk pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  menggunakan metode ELISA.



**Gambar 4.1.** Alur penelitian

Catatan : Peneliti tidak melakukan pembuatan hewan model hipertensi (injeksi L-NAME)

Keterangan:

1. Kelompok 1: kelompok kontrol negatif (tikus yang tidak diberi injeksi L-NAME, hanya diinjeksi PBS).



2. Kelompok 2: kelompok kontrol positif (tikus yang diberi injeksi L-NAME).
3. Kelompok 3: tikus yang telah diberi injeksi L-NAME selama 28 hari dengan terapi ekstrak daun *Physalis angulata* L. 500 mg/kgBB selama 26 hari.
4. Kelompok 4: tikus yang telah diberi injeksi L-NAME selama 28 hari dengan terapi ekstrak daun *Physalis angulata* L. 1500 mg/kgBB selama 26 hari.
5. Kelompok 5: tikus yang telah diberi injeksi L-NAME selama 28 hari dengan terapi ekstrak daun *Physalis angulata* L. 2500 mg/kgBB selama 26 hari.

#### 4.2 Populasi dan Sampel

##### 4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini menggunakan tikus strain Wistar betina dengan usia 10 minggu dan berat 180 gram.

##### 4.2.2 Sampel Penelitian

###### 4.2.2.1 Kriteria Inklusi

Tikus strain Wistar betina, berbulu putih dan halus, sehat ditandai dengan bergerak aktif dan tingkah laku normal, umur 10 minggu dan berat badan  $\pm 180$  gram.

###### 4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

Tikus Wistar yang cacat, sakit dan/ atau mati.

###### 4.2.2.3 Perhitungan Sampel

Teknik randomisasi digunakan untuk pemilihan sampel dari populasi, karena teknik ini dapat meminimalisasi bias. Jumlah minimal sampel yang diperlukan dihitung menggunakan rumus dari Federrer, yaitu  $(t-1) (r-1) \geq 15$ ,



dengan  $t$  merupakan jumlah kelompok perlakuan dan  $r$  adalah jumlah replikasi (sampel). Pada penelitian ini jumlah kelompok perlakuan adalah 5, sehingga didapatkan nilai  $r$  sebagai berikut:

$$(t-1)(r-1) \geq 15; (5-1)(r-1) \geq 15; (4)(r-1) \geq 15; r-1 \geq 3,75$$

$$r \geq 4,75 \approx 5$$

jumlah sampel minimal yang dibutuhkan adalah 5 tikus per kelompok perlakuan.

Terdapat 5 macam kelompok perlakuan. Sehingga, pada penelitian ini, jumlah total sampel yang dibutuhkan adalah sebanyak 25 tikus.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Independen

Variabel independen dari penelitian ini adalah ekstrak daun *Physalis angulata L.* dalam berbagai dosis yang diberikan pada tikus.

#### 4.3.2 Variabel dependen

Variabel dependen dari penelitian ini adalah kadar  $TNF-\alpha$  pada serum tikus Wistar betina model hipertensi.

### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran dan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juni hingga September tahun 2019.



#### 4.5 Definisi Operasional

1. Tikus strain Wistar yang digunakan berbulu putih, memiliki jenis kelamin betina dengan usia 10 minggu dan berat badan 180 gram.
2. Daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) kering dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor. Determinasi tanaman dilakukan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung (SITH-ITB): No. 3538/I1.CO2.2/PL/2016. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dari 100gram serbuk kering daun ciplukan didapatkan 18gram ekstrak. Proses tersebut dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Ekstrak yg diberikan dengan dosis 75mg/kgBB.
3. Tikus Wistar betina model hipertensi adalah tikus yang setelah berhasil melewati masa adaptasi selama 21 hari lalu diinduksi L-NAME selama 28 hari.
4. Kadar TNF- $\alpha$  yang diukur adalah kadar TNF- $\alpha$  dari serum tikus yang diukur dengan menggunakan metode ELISA yang dilakukan menggunakan pendeteksi antibodi *Biotinylated* dan konjugat HRP lalu diinkubasi pada suhu 37°C (Elabscience, 2019).

#### 4.6 Alat dan Bahan

##### 4.6.1 Alat dan Bahan Sanitasi dan Higienisasi

Alat dan bahan yang digunakan adalah tempat cuci tangan, jas laboratorium, masker, handscoen, alkohol 70%, kapas, dan sabun antiseptik.

##### 4.6.2 Alat dan Bahan Pemeliharaan dan Perawatan Hewan Coba



Pada pemeliharaan tikus diperlukan bak plastik berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm 25 buah, tutup kandang terbuat dari kawat 25 buah, botol air 25 buah, sekam 6 karung, timbangan berat badan dengan neraca Sartorius, dan makanan dengan pelet yang dicampur susu.

#### 4.6.3 Alat dan Bahan Pemberian L-NAME

Alat dan bahan yang dibutuhkan untuk pemberian L-NAME ialah spuit 1 cc, tabung sample 20 ml dan 0,57 mL PBS untuk masing-masing tikus, neraca Ohaus digital.

#### 4.6.4 Alat dan Bahan Pemberian PBS

Alat dan bahan yang diperlukan untuk pemberian PBS adalah spuit 1 cc dan larutan PBS.

#### 4.6.5 Alat dan Bahan pembuatan ekstrak daun *Physalis angulata L.*

Alat dan bahan yang diperlukan untuk pembuatan ekstrak daun ciplukan adalah serbuk daun ciplukan 100 mg, etanol 96% 900 ml, shaker, kertas saring, labu evaporasi, evaporator, timbangan, labu penampung, oven, labu erlenmeyer, corong, gelas beker.

#### 4.6.6 Alat dan Bahan Pelarutan ekstrak daun *Physalis angulata L.*

Alat dan bahan yang diperlukan untuk melarutkan ekstrak daun ciplukan adalah pasta ekstrak daun ciplukan, aquades, tabung sampel 20 ml, gelas arloji, pengaduk.



#### 4.6.7 Alat dan Bahan Pemberian ekstrak daun *Physalis angulata* L.

Alat dan bahan yang dibutuhkan untuk pemberian L-NAME ialah spuit 5 cc, sonde, tabung sample 20 ml.

#### 4.6.8 Alat dan Bahan Pembedahan dan Pengambilan Darah

Alat dan bahan yang digunakan untuk prosedur pengambilan darah adalah gunting bedah 1, pinset 2, jarum pentul 4, steroform 2, *block holder*, tabung vacuntainer EDTA, vacuntainer plain.

#### 4.6.9 Alat dan Bahan untuk memisahkan serum darah

Alat yang digunakan adalah freezer dengan suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ , vacuntainer EDTA, vacuntainer plain, sentrifus, mikropipet, tabung serum.

#### 4.6.10 Alat dan Bahan Pengukuran Kadar TNF- $\alpha$

Alat yang digunakan adalah Micro ELISA Plate, *standard working solution*, *Biotinylated Detection Ab working solution* (100x), *Concentrated HRP Conjugate working solution* (100x), *Concentrated wash buffer* (25x), *Biotinylated antibody detection diluent*, *Concentrated HRP Conjugate Diluent*, *sealer*, *stop solution*.

### 4.7 Prosedur Penelitian

#### 4.7.1 Prosedur Pemeliharaan Tikus

Setiap tikus ditimbang lalu dimasukkan ke dalam kandang yang telah diberi label. Tikus kemudian dipelihara selama 7 minggu (21 hari adaptasi dan 28 hari perlakuan) dalam kandang plastik berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm dengan alas sekam yang diganti setiap tiga hari dan diberi penutup anyaman kawat. Satu



kandang berisi 5 tikus. Tikus diberi makan dan minum yang cukup serta situasi yang minimal dari stresor lain.

#### 4.7.2 Persiapan Hewan Coba

Sebelum penelitian dimulai, dilakukan persiapan pemeliharaan hewan coba mula dari kandang yang ditempatkan pada suhu ruano 24 derajat celsius, sekam diganti tiap 3 hari, tempat makan dan minum, serta makanan yang berasal dari campuran pelet dan susu. Tikus penelitian dibagi menjadi 5 kelompok yang masing masing terdiri dari 5 ekor tikus, yaitu kelompok I (kontrol negatif), II (kontrol positif), serta kelompok III, IV, dan V sebagai kelompok perlakuan.

#### 4.7.3 Prosedur pembuatan ekstrak daun *Physalis angulata* L.

Untuk mendapatkan kandungan zat aktif dalam daun *Physalis angulata* L. diperlukan satu proses pengekstraksian. Dalam penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi. Cara kerjanya sebagai berikut:

##### A. Proses pengeringan

1. Bahan alam (sampel basah) dicuci bersih
2. Dipotong kecil
3. Dimasukkan ke oven dengan suhu 40-60 derajat atau dikeringkan dengan panas matahari lalu jadi bahan kering.

##### B. Proses ekstraksi

1. Bahan kering dihaluskan dengan blender



2. Ditimbang sebanyak 100 gram
  3. Direndam pelarut 1000 ml
  4. Dikocok selama 30 menit dan direndam 1 malam sampai mengendap
  5. Diambil lapisan atas yang merupakan campuran pelarut dan zat aktif
  6. Poin 4-5 dilakukan 3x
- C. Proses evaporasi
7. Dimasukkan ke labu evaporasi 1 liter
  8. Labu dipasang pada evaporator
  9. Water bath diisi air sampai penuh
  10. Suhu water bath diatur 90 derajat Celsius atau sesuai dengan titik didih pelarut
  11. Semua rangkaian alat dipasang dan disambungkan dengan aliran listrik
  12. Pelarut dibiarkan terpisah dengan zat aktif
  13. Aliran pelarut dibiarkan sampai berhenti menetes pada labu penampung (1,5 - 2 jam) kemudian di oven selama 1 jam
  14. Hasil oven (ekstrak) ditimbang sampai berat tetap
  15. Dioven lagi lalu ditimbang, hal ini dilakukan berulang sampai pelarut sudah teruap.



16. Didapatkan hasil ekstraksi kira kira 1/5 dari bahan alam kering.

17. Hasil ekstraksi dimasukkan dalam botol plastik atau kaca lalu disimpan di freezer.

#### 4.7.4 Penentuan dosis ekstrak daun *Physalis Angulata L.*

Dalam penelitian ini dosis ekstrak daun ciplukan digunakan dosis 500 mg/kgBB, 1500 mg/kgBB, dan 2500 mg/kgBB.

#### 4.7.5 Prosedur Pemberian Ekstrak *Physalis Angulata L.*

Pemberian ekstrak *Physalis Angulata L.* dilakukan dengan metode sonde menggunakan pipa orogastrik yang terhubung dengan spuit. Perlakuan diberikan dengan dosis yang sudah ditentukan yaitu, 500 mg/kgBB, 1500 mg/kgBB dan 2500 mg/kgBB. Perlakuan tersebut diberikan pada kelompok hewan coba 3, 4, 5 mulai hari ke-24 hingga hari ke-48. Sonde dipasang pada ujung spuit lalu dimasukkan ke dalam mulut tikus Wistar sehingga mencapai faring.

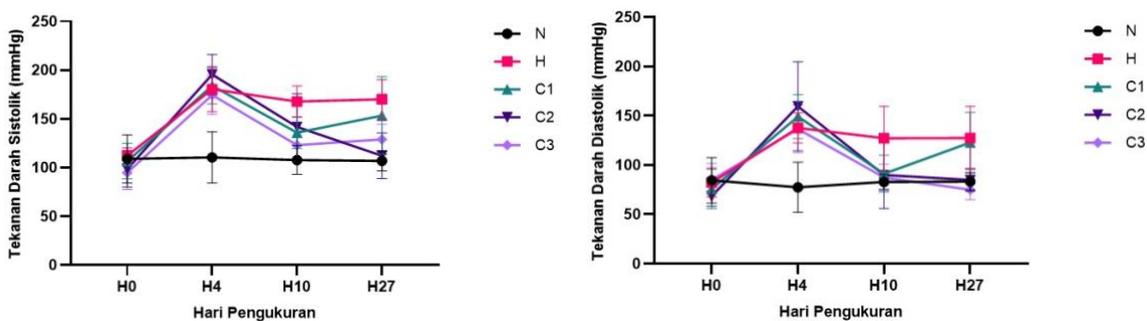
#### 4.7.6 Prosedur pembedahan dan pengambilan serum

Pembedahan dan pengambilan darah pada tikus dilakukan oleh pihak yang berkompeten di Laboratorium Farmakologi FKUB. Sebelum dilakukan pembedahan, tikus dianestesi terlebih dahulu dengan ketamin (vial 10 mg/mL) dosis 40 mg/kgBB intraperitoneal, lalu difiksasi dan siap dibedah. Tikus diletakkan pada *block hoder* sebelum diambil darahnya melalui jantung (eksanguinasi). Kemudian darah yang telah diambil akan dimasukkan kedalam vacuntainer plain dan vacuntainer EDTA. Darah yang berada di vacuntainer plain akan diberikan ke Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk di sentrifus. Tabung vacuntainer plain tersebut dibiarkan terlebih dahulu selama 2

jam pada suhu ruang, lalu di sentrifus dengan kecepatan 3000rpm selama 10 menit. Setelah di sentrifus, supernatan diambil menggunakan mikropipet, dan dipindahkan pada tabung serum. Tabung serum yang telah berisi serum akan disimpan dalam freezer dengan suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.7.7 Hasil pengukuran tekanan darah

Dilakukan dengan metode tail-cuff menggunakan CODA® rat tail-cuff blood pressure system (Kent Scientific Corp., Torrington, CT, USA) pada H0, H4, H10, dan H27 di Lab. Faal FKUB. Berikut hasil pengukuran tekanan darah tikus:



Gambar 4.2. Pengukuran Tekanan darah Tikus

#### 4.7.8 Prosedur pengukuran kadar TNF- $\alpha$ dalam serum dengan ELISA

##### A. Persiapan reagen

1. Memindahkan seluruh reagen pada suhu ruang ( $18-25^{\circ}\text{C}$ ) sebelum digunakan. Mengikuti *Microplate reader manual* untuk pengoperasian dan dipanaskan terlebih dahulu selama 15 menit sebelum pengukuran densitas optik.



2. *Wash buffer*: 30 mL *Wash buffer* pekat dicairkan dengan 720 mL air yang telah diionisasi untuk membuat 750 mL *Wash buffer*.

3. *Standard working solution*: standar dilarutkan pada 10,000xg, disentrifus selama 1 menit. Standar referensi dan pengencer sampel ditambahkan, lalu dibiarkan selama 10 menit dan dibalik perlahan lahan beberapa kali.

Setelah terlarut seluruhnya, larutan dicampurkan menggunakan pipet.

Pada prosedur ini menggunakan *working solution* 5000pg/mL. Setelah

itu, berbagai pengenceran dibuat sesuai dengan kebutuhan.

Pengenceran yang disarankan adalah 5000; 2500; 1250; 625; 312,5;

156,25; 78,13; 0 pg/mL. Metode pengenceran: 7 *EP tube* diambil, lalu

500  $\mu$ l standar referensi ditambahkan dan sampel diencerkan pada

masing-masing *tube*. 500  $\mu$ l diambil dari 5000pg/mL *working solution*

menggunakan pipet dan diletakkan pada tabung pertama dan

dicampurkan pada tabung yang berisi larutan 2500pg/mL. 500  $\mu$ l larutan

diambil dan diletakkan pada tabung-tabung lain sesuai prosedur yang

sama.

4. *Biotinylated Detection Ab working solution*: Menghitung jumlah yang

diperlukan sebelum eksperimen (100  $\mu$ l/well). Sebelum digunakan, tube

disentrifus terlebih dahulu, lalu *Biotinylated Detection Ab working solution*

100x diencerkan menggunakan *Biotinylated Detection Ab diluent*.

5. *Concentrated HRP Conjugate working solution*: jumlah yang diperlukan

sebelum eksperimen (100  $\mu$ l/well) dihitung terlebih dahulu. *Concentrated*

*HRP Conjugate* diencerkan menjadi 1x *working solution* dengan

*Concentrated HRP Conjugate Diluent*.



## B. Prosedur Assay

6. *Standard working solution* dimasukkan pada dua lubang pertama. Masing-masing konsentrasi diulangi dua kali pada masing-masing lubang di microplate dengan konsentrasi 100  $\mu$ l pada masing-masing lubang. Plate ditutup menggunakan *sealer* yang ada di dalam kit dan diinkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C.
7. Cairan pada masing-masing lubang dihilangkan, tapi tidak mencucinya. 100  $\mu$ l *Biotinylated Detection Ab working solution* dimasukkan pada masing-masing lubang. Ditutup menggunakan *sealer*, dicampurkan secara perlahan dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.
8. larutan yang ada pada masing-masing lubang dituangkan dan ditambahkan 350  $\mu$ l *wash buffer*. Direndam selama 1-2 menit dan dituang larutan pada masing-masing lubang dan dikeringkan dengan kertas absorban. Prosedur ini diulangi sebanyak 3 kali.
9. 100  $\mu$ l *HRP Conjugate working solution* ditambahkan pada masing-masing lubang. Ditutup menggunakan *sealer*. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
10. Larutan pada masing-masing lubang dituangkan, proses pencucian ini diulangi seperti langkah ke 3.
11. 90  $\mu$ l *substrate reagent* ditambahkan pada masing-masing lubang. Ditutup dengan *sealer* dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Menjauhkan plate dari cahaya
12. 50  $\mu$ l *stop solution* ditambahkan pada masing-masing lubang.



13. OD (*Optical Density*) value dihitung pada masing-masing lubang sekaligus menggunakan *micro-plate reader* yang diatur pada 450 nm.

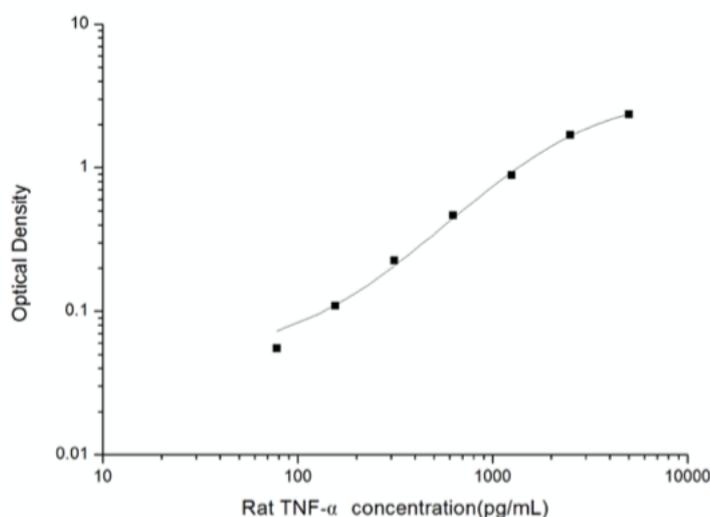
### C. Penghitungan hasil

Menghitung jumlah rata rata pada masing-masing pengulangan konsentrasi, lalu dikurangi dengan *average zero* pada OD standar. Keempat parameter digambarkan dalam bentuk kurva, dengan konsentrasi standar berada pada sumbu x dan jumlah OD pada sumbu y.

Jika sampel merupakan hasil pengenceran, maka konsentrasinya dihitung dari kurva standar yang dikalikan dengan faktor pengenceran. Jika OD sampel melampaui batas atas dari kurva standar, maka pengulangan tes dapat dilakukan dengan pengenceran yang sesuai. Konsentrasi sesungguhnya dihitung dengan mengalikannya dengan faktor pengenceran.



Concentration(pg/mL)	5000	2500	1250	625	312.5	156.25	78.13	0
OD	2.432	1.763	0.963	0.544	0.304	0.186	0.132	0.077
Corrected OD	2.355	1.686	0.886	0.467	0.227	0.109	0.055	-



Gambar 4.3. Contoh Kurva Perhitungan Hasil (Elabscience, 2019)

#### 4.7.9 Prosedur Pengolahan Data

Data yang didapat berupa konsentrasi kadar TNF- $\alpha$  pada serum tikus Wistar dari semua kelompok perlakuan dan akan diasumsikan normalitas distribusi data dan homogenitas ragam datanya. Apabila data normal dan homogen maka akan dianalisis menggunakan uji hipotesis *one-way ANOVA*. Bila tidak normal atau tidak homogen, maka menggunakan uji hipotesis *Kruskall-Wallis*. Perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) akan dilanjutkan dengan *Post-hoc (LSD)* dan penghitungan nilai korelasi *Pearson*.

**BAB 5****HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA**

Penelitian ini merupakan eksperimen murni (*true experimental design*) secara *in vivo* dengan randomisasi menggunakan hewan coba berupa tikus yang dibagi dalam 6 kelompok. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  serum tikus wistar betina model hipertensi yang diinduksi L-NAME. Analisis data penelitian yang dilakukan dalam eksperimen berikut menggunakan software SPSS versi 20 dengan menggunakan metode *One-Way ANOVA*. Syarat dilakukan pemilihan metode tersebut ialah data yang didapatkan harus terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji *Levene statistics*. Apabila syarat dari uji normalitas dan homogenitas tersebut telah terpenuhi, maka dilanjutkan dengan analisis *One-Way ANOVA*. Berdasarkan hasil analisis menggunakan *One-way ANOVA*, apabila didapatkan nilai signifikansi  $<0,05$  berarti data tersebut signifikan, dan dapat dilanjut dengan uji *Post-hoc* untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan.



### 5.1 Hasil penelitian

Pada hasil penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap kadar TNF- $\alpha$  serum tikus wistar betina model hipertensi yang diinduksi L-NAME didapatkan dengan melakukan pengukuran sampel dengan metode ELISA. Hasil penelitian yang didapatkan adalah sebagai berikut:

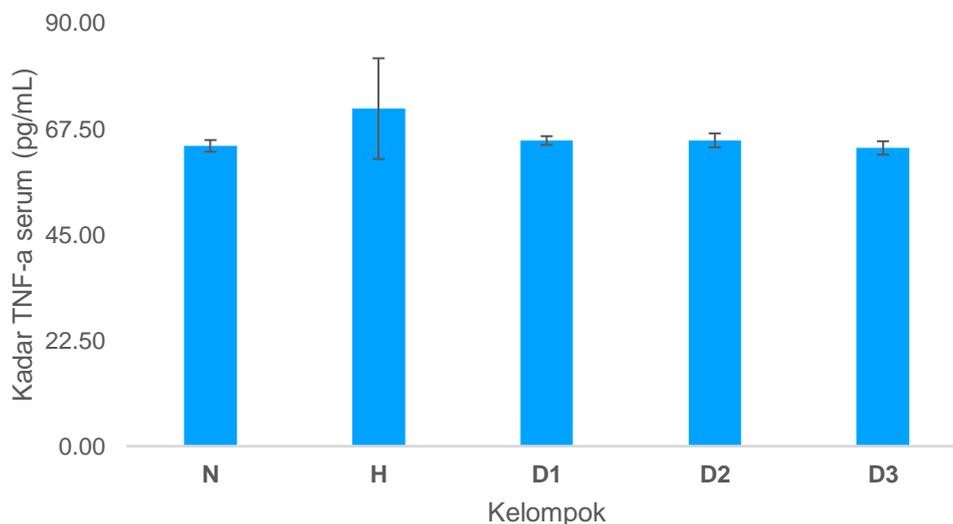
**Tabel 5.1 Kadar TNF- $\alpha$  (pg/ml) pada berbagai kelompok tikus model HT yang diberi Physalis (mean, SD)**

Kelompok	Mean	Standar Deviasi
Normal	63,8838	1,2460
Hipertensi	71,8158	10,7111
Dosis 1 (500 mg/KgBB)	65,0182	0,9349
Dosis 2 (1500 mg/KgBB)	65,0498	1,4754
Dosis 3 (2500 mg/KgBB)	63,4378	1,4302

Pada tabel 5:1 diatas, kelompok kontrol positif (dengan injeksi L-NAME 75 mg/kgBB) didapatkan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  dalam serum adalah 71,82. Hal ini berarti bahwa indeks L-NAME menyebabkan peningkatan kadar TNF- $\alpha$  yang paling tinggi diantara seluruh kelompok. Pada kelompok Dosis 1 (diberi injeksi L-NAME 75 mg/kgBB + ekstrak daun ciplukan 500 mg/kgBB) didapatkan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  dalam serum adalah 65,02. Pada kelompok tikus Dosis 2 (diberi injeksi L-NAME 75 mg/kgBB + ekstrak daun ciplukan 1500 mg/kgBB) rata-rata kadar TNF- $\alpha$  dalam serum adalah 65,05. Pada kelompok tikus Dosis 3 (diberi



injeksi L-NAME 75 mg/kgBB + ekstrak daun ciplukan 2500 mg/kgBB) rata-rata kadar TNF- $\alpha$  dalam serum adalah 63,44.



**Gambar 5.3 Perbandingan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  serum pada tiap kelompok perlakuan**

Pada diagram yang ada pada gambar 5.3 menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif memiliki rata-rata kadar TNF- $\alpha$  pada serum yang paling tinggi apabila dibanding dengan kelompok D1, D2, dan D3.

## 5.2 Hasil Analisis Data

### 5.2.1 Hasil Uji Normalitas Data dan Homogenitas varian

Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan *One-Sample Shapiro-Wilk Test* untuk mengetahui normalitas penyebaran data dari rata-rata kadar TNF- $\alpha$  serum. Hasil dari uji normalitas kadar TNF- $\alpha$  tersebut didapatkan nilai signifikansi ( $p > 0,05$ ).

**Tabel 5.4 Signifikansi Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk**

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Kadar TNF- $\alpha$ serum	0,947	25	0,210

Berdasarkan hasil uji normalitas *Shapiro-wilk* didapatkan bahwa nilai signifikansi ialah 0,210 ( $>0,05$ ) sehingga hal tersebut menunjukkan bahwa sebaran data normal.

**Tabel 5.5 Signifikansi Hasil Uji Homogenitas Levene statistics**

Levene Statistics	df1	df2	Sig.
0,838	4	20	0,517

Berdasarkan hasil uji homogenitas *Levene statistics* didapatkan bahwa nilai signifikansi ialah 0,517 ( $>0,05$ ) sehingga hal tersebut menunjukkan bahwa sebaran data homogen. Dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *one-way ANOVA*.

### 5.2.2 Hasil Uji *One-way ANOVA*

Berdasarkan hasil analisis menggunakan metode *One-way ANOVA* untuk melihat perbedaan secara keseluruhan, pada penelitian ini didapatkan bahwa hasil signifikansi 0,084 ( $p>0,05$ ) sehingga hal tersebut menandakan bahwa tidak ada perbedaan kadar TNF- $\alpha$  yang bermakna dalam serum tikus wistar betina baik antar kelompok perlakuan maupun pada masing-masing anggota kelompok.



### 5.2.3 Korelasi dosis *Physalis angulata* L. dan Kadar TNF- $\alpha$ serum

Uji korelasi Pearson bertujuan untuk mengukur keberadaan hubungan (nilai p) dan kekuatan dari hubungan antar dua variabel (yang ditunjukkan dengan nilai  $r$  -1 sampai +1). Apabila nilai  $r$  (koefisien korelasi) menunjukkan nilai negatif, maka artinya hubungan antara dua variabel tersebut berbanding terbalik dan apabila nilai  $r$  menunjukkan nilai positif maka berarti berbanding lurus. Menurut Evans (1996), kekuatan korelasi dari nilai  $r$  adalah sebagai berikut:

- Apabila  $r$  0,00-0,19 = sangat lemah
- Apabila  $r$  0,20-0,39 = lemah
- Apabila  $r$  0,40-0,59 = sedang
- Apabila  $r$  0,60-0,79 = kuat
- Apabila  $r$  0,80-1,00 = sangat kuat

Berdasarkan uji korelasi Pearson yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa nilai signifikansi ( $p$ ) ialah sebesar 0,055 ( $p > 0,05$ ) dan nilai koefisien korelasi ( $r$ ) ialah sebesar -0,435. Hal ini berarti bahwa hubungan antara dua variabel tersebut berbanding terbalik, yakni semakin tinggi dosis dari ekstrak daun *Physalis angulata* L. maka semakin rendah kadar TNF- $\alpha$  serum, namun perubahan tersebut tidak signifikan. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa hubungan antara dosis pemberian ekstrak daun *Physalis angulata* L. dengan kadar TNF- $\alpha$  serum ialah sedang, yang berarti pemberian ekstrak daun *Physalis angulata* L. dapat menyebabkan penurunan pada kadar TNF- $\alpha$  serum dengan korelasi sedang pada tikus wistar betina model hipertensi yang diinduksi L-NAME, namun tidak signifikan.

**Bab 6****PEMBAHASAN**

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* dengan metode eksperimental, menggunakan ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) yang diberikan kepada tikus wistar betina model hipertensi yang bertujuan untuk mengetahui efek dari ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) dalam menurunkan tekanan darah dengan melihat penurunan kadar TNF- $\alpha$  dalam serum tikus wistar tersebut. Pada penelitian ini, terdapat 5 kelompok hewan coba, yaitu kelompok kontrol negatif (normal), kelompok kontrol positif/ hipertensi (mendapat injeksi L-NAME dengan 75 mg/kgBB), kelompok Dosis 1 (mendapat Injeksi L-NAME 75 mg/kgBB + ekstrak daun ciplukan 500 mg/kgBB), kelompok Dosis 2 (mendapat Injeksi L-NAME 75 mg/kgBB + ekstrak daun ciplukan 1500 mg/kgBB), dan kelompok Dosis 3 (mendapat Injeksi L-NAME 75 mg/kgBB + ekstrak daun ciplukan 2500 mg/kgBB). Dosis ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) merupakan variabel bebas, dan kadar TNF- $\alpha$  dalam serum tikus wistar merupakan variabel tergantung. L-NAME diberikan secara injeksi subkutan selama 28 hari, dan ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) diberikan per-oral selama 26 hari.

Pengukuran kadar TNF- $\alpha$  yang dilakukan setelah 28 hari perlakuan menunjukkan berbagai macam hasil pada masing-masing anggota kelompok.

Pada kelima ekor tikus kelompok normal menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  sebesar 62-65 pg/ml. Pada kelompok kelima tikus kontrol positif/ hipertensi menunjukkan peningkatan kadar TNF- $\alpha$  yang berbeda-beda antar masing-masing anggota



kelompok, yaitu 3 ekor tikus menunjukkan peningkatan diatas nilai normal yakni 67 pg/ml, 69 pg/ml, dan 90 pg/ml, sementara 2 ekor tikus lainnya menunjukkan peningkatan kadar TNF- $\alpha$  yang masih berada dalam nilai normal yakni 65 pg/ml.

Rata-rata perbandingan kadar TNF- $\alpha$  antara tikus kelompok normal dengan tikus hipertensi adalah  $63,8 \pm 1,2$  pg/ml vs  $71,8 \pm 10,7$  pg/ml. Standar deviasi yang bernilai besar pada kelompok tikus hipertensi ini terjadi karena hanya ada 3 ekor tikus yang mengalami peningkatan kadar TNF- $\alpha$  diatas nilai normal, sementara 2 ekor

lainnya tidak. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Wen Shu (2018) mengenai keefektifan pengaruh berbagai macam dosis L-NAME (40 mg/kgBB; 75 mg/kgBB; 125mg/kgBB) dalam meningkatkan kadar sitokin inflamasi, kerusakan vaskuler dan stress oksidatif pada tikus hamil model pre-eklampsia. Penelitian tersebut dilakukan pada 70 ekor tikus yang dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan.

Injeksi L-NAME dilakukan secara subkutan di leher belakang. Hasilnya menunjukkan bahwa terjadi peningkatan yang signifikan pada tekanan darah sistolik dan MAP pada semua tikus kelompok perlakuan, dengan hasil yang paling tinggi pada pemberian dosis 75 mg/kgBB. Sementara itu, hasil pengukuran kadar

TNF- $\alpha$  menunjukkan peningkatan yang tidak signifikan pada semua kelompok perlakuan apabila dibandingkan dengan tikus kelompok normal, sebagian tikus menunjukkan peningkatan TNF- $\alpha$  diatas nilai normal, namun sebagian lainnya

menunjukkan peningkatan yang masih berada dalam *range* normal (Shu Wen et al, 2018). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa tikus model Hipertensi memiliki rata-rata tekanan darah yang lebih tinggi dari tikus normal, yaitu 100 mmHg pada tikus normal dan 180 mmHg pada tikus hipertensi. Peningkatan tekanan darah



tersebut juga didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Ji Joon Sung (2013) menunjukkan bahwa tikus yang diinduksi oleh L-NAME menyebabkan kenaikan tekanan darah bahkan sejak minggu pertama (Sung Ji Hoon *et al.*, 2013). L-NAME merupakan inhibitor non-spesifik terhadap semua jenis NOS (*Nitric oxide Synthase*) seperti *neuronal* NOS, *inducible* NOS maupun *endothelial* NOS (Ramanathan V dan Malarvili, 2014). Peran L-NAME yang paling berpengaruh terhadap timbulnya hipertensi ialah perannya dalam menghambat *endothelial* NOS (eNOS) untuk memproduksi NO. L-NAME menghambat produksi L-arginin yang akan diubah menjadi NO oleh eNOS. Penurunan produksi NO pada endotel ini menyebabkan terjadinya vasokonstriksi pada otot polos pembuluh darah, sehingga terjadilah peningkatan resistensi perifer yang berakibat pada meningkatnya tekanan darah (Berkban *et al.*, 2015).

Penurunan produksi NO, menyebabkan peningkatan *Reactive oxygen Species* (ROS), hal ini akan menyebabkan terjadinya inflamasi yang ditandai dengan keluarnya sitokin pro-inflamasi yaitu TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-17, dsb (Mintaroem, 2016). Inflamasi merupakan salah satu proses yang diketahui berhubungan erat dengan terjadinya hipertensi, namun hingga saat ini belum diketahui secara jelas apakah inflamasi merupakan penyebab atau akibat dari terjadinya hipertensi. Hal ini dikarenakan, proses inflamasi dapat memicu kerusakan endotel (disfungsi endotel) sehingga endotel tidak dapat menghasilkan NO (*Nitric Oxide*) dan terjadi kontraksi otot polos pembuluh darah, akibatnya terjadilah hipertensi. Namun, hipertensi sendiri juga dapat memicu proses inflamasi, sehingga kerusakan yang disebabkan semakin parah (Dinh *et al.*, 2014). Hal inilah yang menjadi alasan mengapa tidak seluruh kelompok hewan coba hipertensi mengalami peningkatan kadar TNF- $\alpha$ .



Kelompok tikus perlakuan yang diberi dosis ekstrak daun ciplukan pada dosis 1,2, dan 3 menunjukkan penurunan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  apabila dibandingkan dengan kelompok tikus hipertensi. Pada kelima tikus kelompok perlakuan yang diberi dosis ekstrak daun ciplukan pada dosis 1,2, dan 3 ini, menunjukkan rata-rata kadar TNF- $\alpha$  yang sama dengan tikus pada kelompok normal (62-65 pg/ml).

Pada tikus kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun ciplukan pada dosis 1 dan 2, menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  4 ekor tikus berada dalam rentang normal dan 1 ekor tikus berada diatas rentang normal. Pada tikus kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun ciplukan pada dosis 3, semua anggota kelompok menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  dalam rentang normal. Menurut penelitian yang dilakukan Yanjun Yang (2018) menyatakan bahwa konsentrasi fisalin minimal yang dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  secara signifikan adalah 5  $\mu$ M (Yang Yanjun *et al.*, 2018). Sedangkan pada penelitian ini, dosis ciplukan yang digunakan adalah dosis kasar yang belum diketahui konsentrasi dari masing-masing zat aktifnya.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun *Physalis angulata* L. terbukti dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  serum. Kandungan fisalin yang terdapat pada daun ciplukan ini diketahui memiliki etek sebagai anti-inflamasi. Menurut penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Yanjun Yang (2018) mengenai efek fisalin B terhadap kultur sel RAW264.7 makrofag yang distimulasi oleh LPS menyatakan bahwa kandungan fisalin B yang terdapat pada *Physalis angulata* L. pada konsentrasi 5, 10, dan 20  $\mu$ M dapat menurunkan aktivitas dari sitokin pro-inflamasi yaitu TNF- $\alpha$  dan IL-6 yang diinduksi oleh LPS. Fisalin B juga



menghambat translokasi NF- $\kappa$ B di nukleus dengan cara meningkatkan I $\kappa$ B $\alpha$  di sitoplasma, sehingga dapat disimpulkan bahwa fisalin B memiliki efek sebagai anti-inflamasi dengan cara menghambat jalur NF- $\kappa$ B yang ditunjukkan dengan adanya penurunan dari kadar TNF- $\alpha$  dan IL-6 pada serum secara signifikan (Yang Yanjun *et al.*, 2018). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Lestari (2016) mengenai ekstrak daun *Physalis minima* L. pada dosis 500, 1500, dan 2500 mg/kgBB yang dilakukan pada tikus betina hipertensi yang telah diovariectomi. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa kandungan fisalin dan witanolida pada ciplukan dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  serum secara signifikan pada dosis 2500 mg/kgBB, sehingga terjadi penurunan tekanan darah (Lestari *et al.*, 2016). Jadi, pemberian ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) diharapkan mampu mengurangi kadar TNF- $\alpha$  serum tikus wistar betina model hipertensi yang diinduksi L-NAME.

Pada uji statistik *One-Way* ANOVA didapatkan nilai signifikansi 0,084 ( $p > 0,05$ ) yang berarti bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada kadar TNF- $\alpha$  di setiap kelompok perlakuan. Hal tersebut terjadi karena peningkatan kadar TNF- $\alpha$  yang tidak signifikan pada tikus model hipertensi.

Peningkatan dari kadar TNF- $\alpha$  yang tidak signifikan terjadi karena pemberian L-NAME pada dosis 75 mg/kgBB secara subkutan hanya mampu meningkatkan tekanan darah secara signifikan, tetapi belum tentu menyebabkan peningkatan kadar TNF- $\alpha$  pada seluruh anggota kelompok kontrol positif.

Penelitian yang dilakukan oleh Wen Shu (2018) menunjukkan bahwa pada dosis 75 mg/kgBB terjadi peningkatan tekanan darah dan marker inflamasi yaitu IL-17 dan MCP-1 secara signifikan, tetapi tidak dengan TNF- $\alpha$  (Shu Wen *et al.*, 2018).



Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Ozkurt M (2018) menunjukkan bahwa pemberian L-NAME pada dosis 20 mg/kg/hari selama 30 hari secara injeksi intraperitoneal mampu meningkatkan tekanan darah secara signifikan pada hewan coba tikus, dan terjadi peningkatan kadar TNF- $\alpha$  serum secara signifikan dari sampel yang diambil dari ginjal tikus model hipertensi (Ozkurt M *et al*, 2018).

Uji Korelasi Pearson menunjukkan bahwa hubungan antara dosis ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) dan kadar TNF- $\alpha$  serum tikus wistar betina model hipertensi adalah sedang dengan koefisien korelasi (r) sebesar -0,435 yang berarti bahwa semakin tinggi dosis ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) yang diberikan, maka kadar TNF- $\alpha$  pada serum tikus betina hipertensi semakin rendah.

Kesimpulan dari uraian pembahasan di atas adalah ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  serum tikus wistar betina model hipertensi, namun tidak signifikan. Dosis ekstrak daun ciplukan yang diberikan menyebabkan penurunan TNF- $\alpha$  dengan korelasi sedang. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan disertai dengan perubahan pada dosis L-NAME yang paling efektif dan rute pemberian L-NAME yang tepat agar dapat menginduksi peningkatan kadar TNF- $\alpha$  secara signifikan. Cara lain yang dapat dilakukan untuk mendapatkan hasil yang signifikan adalah dengan menambah jumlah sampel pada semua kelompok. Selain itu, pada penelitian ini belum dilakukan uji klinik pada manusia terkait pemanfaatan dari ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*), sehingga perlu penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) sebagai terapi alternatif untuk mengobati penyakit hipertensi pada manusia.



## Bab 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  serum tikus wistar betina model hipertensi, namun penurunan tersebut tidak signifikan.
2. Terdapat hubungan yang sedang ( $r = -0,435$ ) antara dosis ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) dengan kadar TNF- $\alpha$  serum.

#### 7.2 Saran

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka peneliti menyarankan beberapa hal berikut:

1. Perlu dilakukan perubahan dosis dan rute pemberian L-NAME yang tepat agar dapat menyebabkan peningkatan kadar TNF- $\alpha$  secara signifikan.
2. Perlu dilakukan penambahan jumlah sampel hewan coba agar mendapatkan hasil yang signifikan.
3. Perlu dilakukan uji klinik terkait pemanfaatan ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) sebagai terapi untuk penyakit hipertensi pada manusia.



### Daftar pustaka

- Abbas Abul K, Andrew HL, Shiv Pillai. 2016. Basic Immunology: Function and Disorders of the Immune System, 5th edition. Elsevier.
- American Heart Association. 2017. Why High Blood Pressure is a "Silent Killer". USA. American Heart Association.
- Ayodhyareddy, P. and Rupa, P., 2016. Ethno medicinal, phyto chemical and therapeutic importance of *Physalis angulata* L.: a review. *Int. J. Sci. Res.*, 5, pp.2122-27.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2018. Hasil Utama Riskesdas 2018. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, p. 61-66.
- Barbaro, N.R., de Araújo, T.M., Tanus-Santos, J.E., Anhô, G.F., Fontana, V. and Moreno, H., 2015. Vascular damage in resistant hypertension: TNF-alpha inhibition effects on endothelial cells. *BioMed research international*, 2015.
- Berkban, T., Boonprom, P., Bunbupha, S., Welbat, J.U., Kukongviriyapan, U., Kukongviriyapan, V., Pakdeechote, P. and Prachaney, P., 2015. Ellagic acid prevents L-NAME-induced hypertension via restoration of eNOS and p47phox expression in rats. *Nutrients*, 7(7), pp.5265-5280.
- Cabal-Hierro, L. and Lazo, P.S., 2012. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. *Cellular signalling*, 24(6), pp.1297-1305.
- Carey, R.M., Calhoun, D.A., Bakris, G.L., Brook, R.D., Daugherty, S.L., Dennison-Himmelfarb, C.R., Egan, B.M., Flack, J.M., Gidding, S.S., Judd, E. and Lackland, D.T., 2018. Resistant hypertension: detection, evaluation, and management: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension*, 72(5), pp. e53-e90.



Carretero, O.A. and Oparil, S., 2000. Essential hypertension: part I: definition and etiology. *Circulation*, 101(3), pp.329-335.

Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI).2019. *Physalis angulata* L. [cabi.org](http://cabi.org).

Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X. and Zhao, L., 2018. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), p.7204.

De Caterina, R. and Libby, P. eds., 2008. Endothelial dysfunctions in vascular disease. John Wiley & Sons.

DeLong, C. and Sharma, S., 2019. Physiology, peripheral vascular resistance.

Dinh, Q.N., Drummond, G.R., Sobey, C.G. and Chrissobolis, S., 2014. Roles of inflammation, oxidative stress, and vascular dysfunction in hypertension. *BioMed research international*, 2014.

Dong, Y., Dekens, D.W., De Deyn, P.P., Naudé, P.J. and Eisel, U.L., 2015. Targeting of tumor necrosis factor alpha receptors as a therapeutic strategy for neurodegenerative disorders. *Antibodies*, 4(4), pp.369-408.

Erkel, G., 2000. Trichodion, a new inhibitor of inflammatory signal transduction pathways from a *Trichosporiella* species. *FEBS letters*, 477(3), pp.219-223.

Febianti, Z., Permatasari, N. and Soeharto, S., 2019. Vasoprotective effect of *physalis angulata* L. Leaf water extract on kidney of n<sup>o</sup>-nitro-L-arginine methyl ester-induced endothelial dysfunction rat model. *Asian j pharm clin res*, 12(1), pp.432-437.



Figueiredo, V.N., Yugar-Toledo, J.C., Martins, L.C., Martins, L.B., de Faria, A.P.C., de Haro Moraes, C., Sierra, C., Coca, A. and Moreno Jr, H., 2012.

Vascular stiffness and endothelial dysfunction: correlations at different levels of blood pressure. *Blood pressure*, 21(1), pp.31-38.

Fyhrquist, F., Metsärinne, K. and Tikkanen, I., 1995. Role of angiotensin II in blood pressure regulation and in the pathophysiology of cardiovascular disorders. *Journal of human hypertension*, 9, pp. S19-24.

Freihage, J.H., Nanjundappa, A. and Dieter, R.S., 2008. Secondary hypertension: etiology and mechanism of disease. *Therapy*, 5(6), p.787.

Fryar, C.D., Ostchega, Y., Hales, C.M., Zhang, G. and Kruszon-Moran, D., 2017. Hypertension prevalence and control among adults: United States, 2015-2016.

Gao, X., Xu, X., Belmadani, S., Park, Y., Tang, Z., Feldman, A.M., Chilian, W.M. and Zhang, C., 2007. TNF- $\alpha$  contributes to endothelial dysfunction by upregulating arginase in ischemia/reperfusion injury. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 27(6), pp.1269-1275.

Gonzalez Arantxa, Susana R, Begona L, Maria UM, Javier B, Gorca SJ, *et al.* 2018. Myocardial Remodeling in Hypertension. American Heart Association.

James, P.A., Oparil, S., Carter, B.L., Cushman, W.C., Dennison-Himmelfarb, C., Handler, J., Lackland, D.T., LeFevre, M.L., MacKenzie, T.D., Ogedegbe, O. and Smith, S.C., 2014. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *Jama*, 311(5), pp.507-520.



Kemenkes. 2014. Hipertensi. Jakarta Selatan: Pusat Data dan Informasi

Kementrian Kesehatan RI, p.1.

Kochanek KD, Sherry LM, Jiaquan Xu, Elizabeth Arias. 2019. *Deaths: Final Data for 2017*. National Vital Statistics Report; vol 68 no 9. Hyattsville, MD:

National Center for Health Statistics. US Department of Health and Human Services.

Laurent, S., Boutouyrie, P., Asmar, R., Gautier, I., Laloux, B., Guize, L.,

Ducimetiere, P. and Benetos, A., 2001. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*, 37(5), pp.1236-1241.

Lestari, B., Permatasari, N. and Rohman, M.S., 2016. Methanolic extract of

ceplukan leaf (*Physalis minima L.*) attenuates ventricular fibrosis through inhibition of TNF- $\alpha$  in ovariectomized rats. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2016.

Lin Hiu Yu, Yee Ting Lee, Yin Wah Chan, and Gary Tse. 2016. Animal Models for the Study of Primary and Secondary Hypertension in Humans. School of

Biomedical Science, Li Ka Shing Faculty of Medicine, University of Hong Kong, China. NCBI.

Marieb Elaine N, Katja Hoehn. 2013. *The Cardiovascular System: Blood Vessels: Part A*. Pearson Education.

Martinez-Lemus, L.A. 2012. The dynamic structure of arterioles. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 110(1), pp.5-11.

Mintaroem Karyono, Mudjiwiyono HE, Imam Sarwono, Kenty Wantri A, Dyah

Prabawati, Rose Khasana, et al. 2015. Patologi Umum dan Pemeriksaan



Patologi Edisi 2. Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, 2015. Hal. 37-42.

Mullaca. 2002. <http://www.raintree-health.co.uk/plants/mullaca.html>

Murdaca, G., Spanò, F., Cagnati, P. and Puppo, F., 2013. Free radicals and endothelial dysfunction: potential positive effects of TNF- $\alpha$  inhibitors. *Redox report*, 18(3), pp.95-99.

Ozkurt, M., Uzuner, K., Erkasap, N., Kus, G., Ozyurt, R., Uysal, O., Akyazi, I. and Kutlay, O., 2018. Erythropoietin Protects the Kidney by Regulating the Effect of TNF- $\alpha$  in L-NAME-Induced Hypertensive Rats. *Kidney and Blood Pressure Research*, 43(3), pp.807-819.

Pinto, N.B., Morais, T.C., Carvalho, K.M.B., Silva, C.R., Andrade, G.M.D., Brito, G.A.D.C., Veras, M.L., Pessoa, O.D.L., Rao, V.S. and Santos, F.A., 2010. Topical anti-inflammatory potential of Physalin E from *Physalis angulata* on experimental dermatitis in mice. *Phytomedicine*, 17(10), pp.740-743.

Patel, R., Cardneau, J.D., Colles, S.M. and Graham, L.M., 2006. Synthetic smooth muscle cell phenotype is associated with increased nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase activity: effect on collagen secretion. *Journal of vascular surgery*, 43(2), pp.364-371.

Ramanathan Veerappan, Malarvili Thekkumalai. 2014. Role of chrysin on hepatic and renal activities of methyl ester induced hypertensive rats. Department of Biochemistrym Rajah Serfoji Government College, Thanjavur, Tamil Nadu, India. *International Journal of Nutrition, Pharmacology and Neurological Diseases*.

Rengifo-Salgado, E. and Vargas-Arana, G., 2013. *Physalis angulata* L.(Bolsa Mullaca): a review of its traditional uses, chemistry and pharmacology.



*Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12(5), pp.431-445.

Rivera, S.L., Martin, J. and Landry, J., 2019. Acute and chronic hypertension: What clinicians need to know for diagnosis and management. *Critical Care Nursing Clinics*, 31(1), pp.97-108.

S Park, Lakatta EG. 2012. Role of Inflammation in the Pathogenesis of arterial stiffness. Division of Cardiology, Cardiovascular Center, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea. NCBI.

Sherwood, L. 2014. Fisiologi manusia: dari sel ke sistem. Edisi 8. Jakarta: EGC.

Shu, W., Li, H., Gong, H., Zhang, M., Niu, X., Ma, Y., Zhang, X., Cai, W., Yang, G., Wei, M. and Yang, N., 2018. Evaluation of blood vessel injury, oxidative stress and circulating inflammatory factors in an L-NAME-induced preeclampsia-like rat model. *Experimental and therapeutic medicine*, 16(2), pp.585-594.

Sung, J.H., Jo, Y.S., Kim, S.J., Ryu, J.S., Kim, M.C., Ko, H.J. and Sim, S.S., 2013. Effect of lutein on L-NAME-induced hypertensive rats. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 17(4), pp.339-345.

Solt, L.A. and May, M.J., 2008. The I $\kappa$ B kinase complex: master regulator of NF- $\kappa$ B signaling. *Immunologic research*, 42(1-3), p.3.

Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Donald EC, Karen JC, Samuel G, *et al.*

2018. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/

PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and

Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American

College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical

Practice Guidelines. *Hypertension*. 71(6):e13-e115.



Yang, Y.J., Yi, L., Wang, Q., Xie, B.B., Dong, Y. and Sha, C.W., 2017. Anti-inflammatory effects of physalin E from *Physalis angulata* on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells through inhibition of NF- $\kappa$ B pathway. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 39(2), pp.74-79.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Kelayakan Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARENCE"

No: 1191-KEP-UB

KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN CIPLUKAN  
TERHADAP PERBAIKAN DISFUNGSI ENDOTEL  
MATERNAL DAN HIPOKSIDA PLASENTA MELALUI  
PENINGKATAN EPC PADA TIKUS MODEL  
PREEKLAMPSIA

PENELITI : DIAN NUGRAHENNY

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 10 Desember 2019

Ketua Komisi Etik Penelitian  
Universitas Brawijaya  
  
Prof. Dr. Am. Aulanni'am, DES.  
NIP. 19600903 198802 2 001

NB : Nama yang terlampir pada sertifikat ini merupakan anggota peneliti

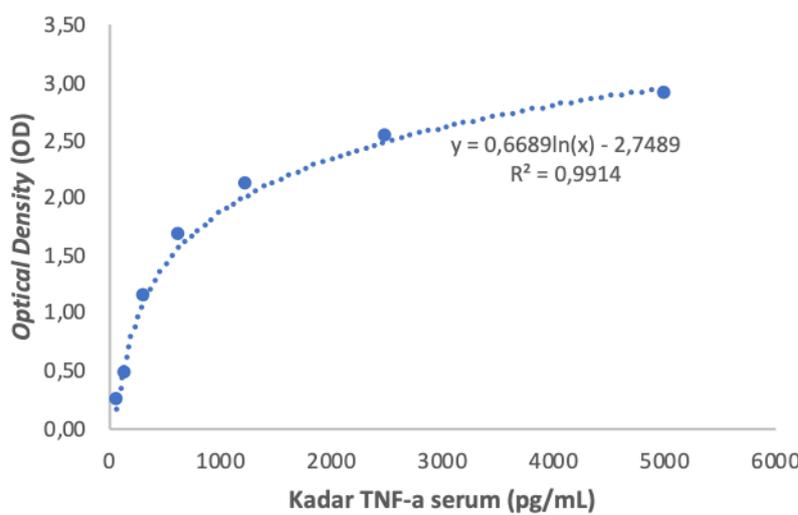


**Berikut Terlampir Nama Anggota Peneliti:**

- |     |                         |                     |
|-----|-------------------------|---------------------|
| 1.  | Zaida Mauludiyah        | NIM 186070400111010 |
| 2.  | Rosa Purwanti           | NIM 186070400111015 |
| 3.  | Dini Ria Oktavia        | NIM 186070400111022 |
| 4.  | Nathania Bella Claresta | NIM 175070100111011 |
| 5.  | Adinda Chika A.         | NIM 175070100111017 |
| 6.  | Tika Ardhini Wardoyo    | NIM 175070101111004 |
| 7.  | Lavina Sofia Ardani     | NIM 175070101111006 |
| 8.  | Mutia Kartika Sani      | NIM 175070101111007 |
| 9.  | Aulia Kezia M.          | NIM 175070101111011 |
| 10. | Nura Fattah Cantika Y.  | NIM 175070101111030 |
| 11. | Niarti Ulan Sari Siarnu | NIM 175070101111038 |
| 12. | Fardizia Putri Alia     | NIM 175070101111040 |

Lampiran 2. Hasil pengukuran TNF- $\alpha$  menggunakan ELISA

Kode sampel	OD 1	OD 2	Mean OD ((b+c)/2)	OD Sampel - OD Blank	Corrected OD (Sampel x - Standar 0)	Kadar (pg/mL)
N1	0,1615	0,1657	0,1636	0,1243	0,0462	65,2778
N2	0,1263	0,1387	0,1325	0,0973	0,0192	62,6953
N3	0,1449	0,1461	0,1455	0,1047	0,0266	63,3928
N4	0,1646	0,1645	0,1646	0,1231	0,0450	65,1608
N5	0,1491	0,1408	0,1450	0,0994	0,0213	62,8925
H1	0,3202	0,3866	0,3534	0,3452	0,2671	90,8214
H2	0,2185	0,2028	0,2107	0,1614	0,0833	69,0006
H3	0,1792	0,1723	0,1758	0,1309	0,0528	65,9250
H4	0,1784	0,1696	0,1740	0,1282	0,0501	65,6595
H5	0,1922	0,1898	0,1910	0,1484	0,0703	67,6726
D1.1	0,1540	0,1574	0,1557	0,1160	0,0379	64,4728
D1.2	0,1606	0,1625	0,1616	0,1211	0,0430	64,9662
D1.3	0,1586	0,1572	0,1579	0,1158	0,0377	64,4535
D1.4	0,1649	0,1582	0,1616	0,1168	0,0387	64,5499
D1.5	0,1624	0,1796	0,1710	0,1382	0,0601	66,6485
D2.1	0,1680	0,1697	0,1689	0,1283	0,0502	65,6693
D2.2	0,1618	0,1670	0,1644	0,1256	0,0475	65,4048
D2.3	0,1621	0,1752	0,1687	0,1338	0,0557	66,2115
D2.4	0,1418	0,1363	0,1391	0,0949	0,0168	62,4708
D2.5	0,1560	0,1679	0,1620	0,1265	0,0484	65,4928
D3.1	0,1547	0,1506	0,1527	0,1092	0,0311	63,8207
D3.2	0,1797	0,1683	0,1740	0,1269	0,0488	65,5320
D3.3	0,1390	0,1372	0,1381	0,0958	0,0177	62,5549
D3.4	0,1374	0,1285	0,1330	0,0871	0,0090	61,7465
D3.5	0,1502	0,1476	0,1489	0,1062	0,0281	63,5351



Kelompok	Mean Kadar	Standar Deviasi
N	63,8838	1,2460
H	71,8158	10,7111
D1	65,0182	0,9349
D2	65,0498	1,4754
D3	63,4378	1,4302

Lampiran 3. Hasil analisis data menggunakan SPSS

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar TNF-a serum	,153	25	,132	,947	25	,210

a. Lilliefors Significance Correction

**Test of Homogeneity of Variances**

Kadar TNF-a serum

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,838	4	20	,517



## ANOVA

Kadar TNF-a serum

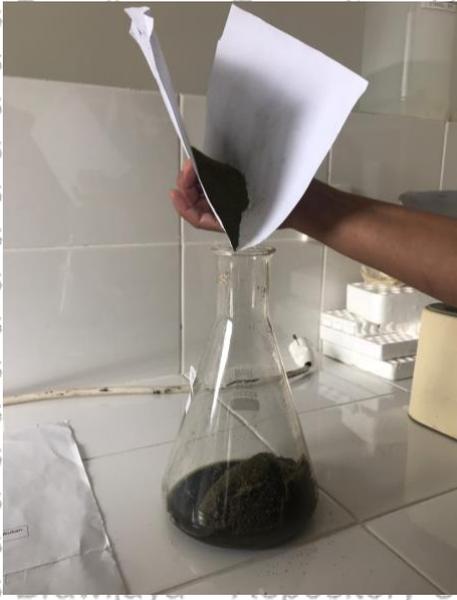
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	233,031	4	58,258	2,400	,084
Within Groups	485,483	20	24,274		
Total	718,514	24			

## Correlations

		Dosis	Kadar TNF-a serum
Dosis	Pearson Correlation	1	-,435
	Sig. (2-tailed)	,	,055
	N	20	20
Kadar TNF-a serum	Pearson Correlation	-,435	1
	Sig. (2-tailed)	,055	,
	N	20	20

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian









Repository Universitas Brawijaya



